

Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff

Studien zur Blutgerinnung

(kapillarmikroskopische, histologische und elektronen-
mikroskopische Untersuchungen am Mesenterium der Maus)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

1967

vorgelegt

von

Jürgen Zingler

Berlin

Aus dem Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff

Studien zur Blutgerinnung

(kapillarmikroskopische, histologische und elektronen-
mikroskopische Untersuchungen am Mesenterium der Maus)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt

von

Jürgen Zingler

Berlin

Dekan: Professor Dr. med. Alfred N. W i t t

Referent: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

Korreferent: Professor Dr. med. Willy S c h w a r z



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 16. Mai 1967

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

	Seite
A. <u>Einleitung</u> : Zielsetzung	1
B. <u>Allgemeiner Teil</u> : Intravasale Gerinnung	
I. Lebendbeobachtung	5
1. Aufbau des Versuchs	5
2. Gefäßarchitektur im Mesenterium	5
3. Beeinflussung des unverletzten Gefäßsystems durch verschiedene Reize	6
II. Zusammenfassung der Versuche und Diskussion	13
C. <u>Spezieller Teil</u> : Extravasale Gerinnung	
I. Verletzungsthromben im Kapillarmikroskop	18
1. Verletzung verschiedener Gefäße	18
2. Zusammenfassung der Ergebnisse	25
3. Verletzungsthromben unter Einwirkung von Fermentgiften	29
II. Morphologie des Verletzungsthrombus	29
1. Histologische Untersuchung	29
a) Paraffinserienschnitte	30
b) Häutchenpräparation	31
2. Elektronenmikroskopische Untersuchung	32
a) Methodik	33
b) Strukturen des Thrombus	33
c) Vergleichende Untersuchung von verschieden alten Thromben	36
III. Elektronenmikroskopische Untersuchung der Gerinnung von menschlichem Plasma in vitro	39
1. Methodik	39
2. Plasmagerinnung in Abhängigkeit von der Zeit	39

3. Plasmagerinnsel nach Zugabe von Thrombo- kinase	40
IV. Zusammenfassung und Diskussion der Befunde bei extravasaler Gerinnung	42
D. Zusammenfassung	54
E. Abbildungen zum Text (15 Abbildungen)	56
Literaturverzeichnis	71

A. Einleitung: Zielsetzung

Die Blutgerinnung wird häufig jeder Art von Verfestigung des Blutes gleichgesetzt. Verschiedene Formen der Blutverfestigung sind aber zu unterscheiden; sie erklären sich aus dem komplexen Aufbau des Blutes einerseits und aus Struktur und Verhalten des Gefäßsystems andererseits.

Natives Blut ist physikalisch betrachtet bekanntlich eine Suspension, in der korpuskuläre Elemente gleichmäßig verteilt in der Schwebelage gehalten werden. Das komplex zusammengesetzte Plasma als Lösungsmittel enthält neben anderem Fibrinogen, einen Eiweißkörper, der gerinnungsphysiologisch deshalb wichtig ist, weil er in den Faserstoff Fibrin übergehen kann. Dadurch kann das Plasma allein vom flüssigen in den festen Zustand übergeführt werden.

Erst eine Verfestigung von Blut infolge des Auftretens von Fasern kann nach heutiger Auffassung als Gerinnung und damit als Blutverfestigung im engeren Sinne angesprochen werden.

Die nicht auf Gerinnung in diesem Sinne beruhenden Verfestigungen des Blutes beruhen auf anderen physiko-chemischen Vorgängen; ihnen ist die Fähigkeit der schnellen Reversibilität eigen, wie die Abscheidung von Thrombocyten und die Agglutination von Erythrocyten bei der Lebendbeobachtung eindrucksvoll gezeigt haben.

In dieser Arbeit werden im Experiment die Strömungen der Mikrozirkulation und die in der terminalen Strombahn auftretenden Durchblutungsstörungen mit Verfestigung des Blutes näher analysiert und insbesondere die frühen Stadien der echten Gerinnung in zeitlicher und gestaltlicher Hinsicht unter Zuhilfenahme elektronenoptischer Untersuchungen studiert. Dabei wird dem Verhalten der Thrombocyten und dem Fibrin das besondere Augenmerk geschenkt.

Die Blutverfestigung im weiten Sinne umfaßt neben den echten Gerinnungsprodukten auch Stasen in der terminalen Strombahn. Stasen sind Strömungsstillstände in der unverletzten terminalen Strombahn, wenn diese von verschiedenen Reizen getroffen wird (COHNHEIM, 1867; THOMA, 1878; TANNENBERG, 1925; BIGELOW u. Mitarb., 1949; ILLIG, 1953-55). Unter terminaler Strombahn werden bekanntlich arterielle und venöse Kapillaren, vorgeschaltete Arteriolen und kleine Arterien sowie nachgeschaltete postkapilläre Venolen und kleine Venen verstanden.

ILLIG (1955) bezeichnet als Stasen nur solche Strömungsstillstände, bei denen der Gefäßinhalt lackfarben rosa bis rot, homogen und strukturlos erscheint. Die strukturlose Blutmasse ist gegen die normal durchströmten Anschlußgefäße scharf und oft konisch begrenzt. Die Gefäße mit Stasen sind dicker als die normal durchströmten, weil der Plasmarandsaum auch von der homogenisierten Erythrocytenmasse ausgefüllt ist. Dadurch erscheinen sie prall gefüllt und sehen wie erstarrt aus. Gegenüber dem durchströmten Anschlußgefäß besteht häufig eine kleine nur Plasma enthaltende Zone, die sogenannte Plasmalücke. Zwischen einfachem Strömungsstillstand, bei dem die Blutzellen von einander abgrenzbar bleiben, und der Stase besteht somit morphologisch ein Unterschied. Funktionell gesehen sind einfache Strömungsstillstände genau wie Stasen im allgemeinen reversible Durchblutungsstörungen und machen nach einiger Zeit regelrechten Strömungsverhältnissen wieder Platz.

Aus dem vorher homogenisiert erscheinenden Blut bei der Stase gehen wieder intakte Erythrocyten hervor, die teils einzeln teils vorübergehend verklumpt fortgespült werden. Trifft ein Reiz die Endstrombahn, so stellen sich nicht sofort Stasen, sondern zunächst eine als Ataxie bezeichnete Strömungsbeeinträchtigung ein (ILLIG, 1953-55).

Die vorher nur im Axialstrom fließenden Blutzellen füllen nun auch den Plasmarandsaum aus, die Strömung wird ungeordnet und körnelig, aber es braucht nicht zum Strömungsstillstand zu kommen. Dieses Phänomen wird als Praestase bezeichnet, weil ihm oft die Stase folgt. Auch bei der Lösung der Stase stellt sich zunächst eine ungeordnete Strömung ein, die sogenannte Poststase. Alle diese Erscheinungen werden unter dem Begriff der Peristase oder peristatischen Hyperämie zusammengefaßt.

Das blood-sludge-Phänomen ist nach KNISELY u. Mitarb. (1947) ebenfalls eine reizbedingte vorübergehende Strömungsbeeinträchtigung in der Endstrombahn. Einige Erythrocyten verklumpen, die Strömungsgeschwindigkeit wird teils stärker teils weniger stark durch diese Aggregate vermindert. Im Gegensatz zur Peristase kommt es zur stärkeren Entmischung von Zellen und Plasma.

Als Thrombose bezeichnet man einen Vorgang, der zu einer festen und unter Umständen dauerhaften Zusammenballung von Blutbestandteilen und zu einem Thrombus führt (ZAHN, 1875; SCHIMMELBUSCH, 1886; ASCHOFF, 1911; DIETRICH, 1907). Durch besondere Mechanismen kann ein solcher Thrombus wieder aufgelöst werden.

Seit EBERTH und SCHIMMELBUSCH (1886) werden zwei Arten von Thromben unterschieden: die roten oder Gerinnungsthromben und die weißen oder Abscheidungsthromben. Beim roten Thrombus stellt sich als erstes eine Fibrinbildung und in der Folge eine Agglutination aller Blutzellen ein. Der weiße oder Abscheidungsthrombus entsteht dagegen durch Zusammenballung von Thrombocyten an der Gefäßwand unter Einschluß von Fibrin. Durch Fibringerinnung einerseits und durch Einengung des Gefäßlumens durch den wandständigen Thrombus andererseits kann es anschließend zur Ausbildung eines roten Thrombus kommen, der sich dem Abscheidungsthrombus aufpropft. Wir haben es dann mit dem gemischten Thrombus zu tun.

In der vorliegenden Studie werden Stase, Peristase und das Phänomen "blood-sludge" erzeugt und in der Lebendbeobachtung verfolgt. Als Versuchsobjekt dient das Mesenterium der weißen Maus. Dieses kann wegen seiner Dünne und Transparenz mit dem Durchlichtmikroskop bei geeigneter Versuchsanlage beliebig lange beobachtet werden. Die Gefäßarchitektur im Mesenterium ist wegen der Übersichtlichkeit für die unmittelbare Beobachtung besonders geeignet, wie sich aus zahlreichen früheren Untersuchungen erwiesen hat. Nach der Beobachtung der Gefäß- und Strömungsverhältnisse wurde eine Verletzung gesetzt und der auf diesem Boden entstehende Thrombus, ein Abscheidungsthrombus, im einzelnen verfolgt und eingehend histologisch und elektronenmikroskopisch untersucht. Morphologische Befunde wurden zu den funktionellen in Beziehung gesetzt.

Der weiße Thrombus nach Verletzung eines Gefäßes ist als Modell für das Studium der Thrombus-Entstehung wegen seiner leichten Darstellbarkeit und großen Übersichtlichkeit günstig.

Da einige Fragen der Fibringerinnung nach den Untersuchungen bei der Maus nicht beantwortet werden konnten, wurde zum Vergleich die Plasmagerinnung von Menschenblut in vitro herangezogen.

Zur Dokumentation wurden eindrucksvolle Präparate photographiert und wichtige Befunde der Lebendbeobachtung festgehalten. Mangels einer geeigneten Apparatur sind diese Bilder als Zeitaufnahmen sofort nach Tötung des Tieres angefertigt worden.

B. Allgemeiner Teil: Intravasale Gerinnung

I. Lebendbeobachtung (im Durchlichtmikroskop zur Darstellung intravitaler Gerinnung)

1. Aufbau des Versuchs

BIZZOZERO (1882) hatte erstmalig einen Versuchsaufbau zur Untersuchung der terminalen Strombahn beim Warmblüter angegeben. NATUS (1910), NORDMANN u. Mitarb. (1931), ILLIG u. Mitarb. (1953-62) und andere haben seitdem die Technik verbessert und an verschiedenen Tierespezies erprobt. Das Mesenterium war neben anderen Organen immer wieder ein bevorzugtes Studienobjekt.

In Anlehnung an das Vorgehen von RICKER (1925) wurden weiße Mäuse mit Äther narkotisiert und auf einer Glasplatte (15 x 11,5 cm) mit aufgeklebten Korkstücken an den vier Pfoten befestigt. Die Narkose wurde mit einer kleinen "Schimmelbuschmaske" aufrechterhalten, die solange mit Äther beträufelt wurde, bis keine Abwehrbewegungen des Tieres auf Berührungsreize mehr auftraten, und die Atemfrequenz bei ca. 20 Atemzügen pro Minute gleichblieb. Der Dünndarm wurde dann durch einen ca. 3 cm langen Bauchmittelschnitt vorsichtig mit 0,9 %iger Kochsalzlösung vorgespült und auf ein bewegliches Gummibänkchen gelegt, darauf mit 3-5 Igel- oder Pflanzenstacheln fixiert und das Bänkchen solange gezogen, bis das Mesenterium straff, ca. 1 cm über der Glasplatte ausgespannt war. Dauernd wurde es weiter mit physiologischer Kochsalzlösung von 38° C gespült, um Austrocknung zu vermeiden. Zur Beobachtung diente ein binokulares Mikroskop mit 20-200-facher Vergrößerung und der Einrichtung einer Phasenkontrastuntersuchung. Die Versuchsdauer konnte auf diese Weise bis zu 5 Stunden ausgedehnt werden. Zur Messung der Gefäßweite diente ein Meßokular, das sowohl im Hellfeld als auch beim Phasenkontrastverfahren verwendet werden konnte. Für die Zeitmessungen im zweiten Teil der Arbeit wurde eine Stoppuhr benutzt.

2. Gefäßarchitektur im Mesenterium

Vom Ursprung der Mesenterialwurzel verlaufen die Gefäße strahlenförmig zum Darm, verzweigen sich mehrfach und bilden direkt am Darmansatz arkadenartige parallel zum

Darm verlaufende Anastomosen mit zahlreichen abgehenden Ästen, die die Darmwand versorgen. Die Arterien und Venen verlaufen immer paarweise, evtl. begleitet von Lymphgängen und Nerven. Diese Gefäßbündel sind von zartem Binde- und Fettgewebe dicht umspinnen, in welches kleine ernährende Gefäße einstrahlen (Abb. 1). Hier ist die Endstrombahn besonders gut zu beobachten.

Bei diesem Vorgehen ist die Strömung in den großen Arterien und Venen so schnell, daß man die einzelnen Blutelemente nicht erkennen kann. Der Plasmarandsaum ist aber jeweils deutlich sichtbar. Die terminale Strombahn wird zwar auch schnell durchflossen, hier kann man aber die einzelnen Erythrocyten gut erkennen. Hin und wieder befindet sich ein kleiner Gefäßabschnitt in Stase, bedingt durch Zug am Häutchen während der Präparation.

3. Beeinflussung des unverletzten Gefäßsystems durch verschiedene Reize (nach RICKER (1925) und ILLIG (1953))

Taktile Reize:

Hierzu wurden dünne stumpfe Glasstäbe benutzt, um das zarte Gewebe nicht zu verletzen.

Große Venen sind gegenüber Berührungsreizen ziemlich unempfindlich und reagieren kaum. Arterien dagegen sind meistens leicht zu beeinflussen und zeigen oft umschriebene spindelförmige Kontraktionen im Bereich der Berührung. Nach 1 - 2 Minuten ist die Kontraktion wieder verschwunden, wenn nicht erneut taktil gereizt wird. Manchmal kontrahieren sich Arterien auch in ihrer gesamten Länge, und zwar besonders dann, wenn mehrere Reize kurz hintereinander die Gefäßwand treffen. Bei einigen Tieren sind allerdings auch die Arterien sehr wenig berührungsempfindlich. Die Kapillaren sind wie große Venen im allgemeinen wenig berührungssensibel.

Thermische Reize:

Zur entsprechenden Beeinflussung des Mesenterialkreislaufes eignet sich am besten unterschiedlich temperierte 0,9%ige Kochsalzlösung, mit der das Präparat im Abstand von einigen Minuten gespült wird. Es wurde eine physiologische Kochsalzlösung von 20°, 25°, 30°, 40°, 45° und 50° C verwendet.

Dabei kommt es zur sichtbaren Beeinflussung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes, vor allem in der terminalen Strombahn. Bei höheren Temperaturen ist der Blutstrom erheblich beschleunigt und bei niedrigen verlangsamt. Es kommt jedoch nie zu Stasen oder Peristasen. Die kleinen Arterien werden meistens bei einer Spülung mit einer NaCl-Lösung von 20° wie von 50° gegenüber der Norm verengt, manchmal jedoch auch unbeeinflusst. Das Kaliber der Venen ist dagegen wenig verändert.

Um extrem niedrige Temperaturen einwirken zu lassen, wurde das ganze Präparat für 2-5 Minuten in das Eisfach eines gewöhnlichen Kühlschranks gestellt. Nach einer Abkühlung von 2-3 Minuten zeigt sich keine wesentliche Änderung der normalen Strömungsverhältnisse. Nach einem Kälteaufenthalt von 5 Minuten jedoch bieten nahezu alle Endstrombahnen das Bild der Stase. Sofortiges Spülen mit warmer physiologischer Kochsalzlösung ändert wenig an diesem Zustand. Diese Stasen sind nicht mehr auflösbar. Die größeren Venen verhalten sich zunächst peristatisch. Nach Beträufeln mit warmer Flüssigkeit sind nur in den größeren Venen wieder annähernd normale Strömungsverhältnisse zu erzeugen. Die größeren Arterien sind während der ganzen Zeit extrem eng gestellt und lassen sich auch durch warme Flüssigkeit nicht wieder erweitern. An einigen Stellen zeigen Arterien auch spindelförmige Kontraktionen.

Reize durch hyper- und hypotonische Kochsalzlösungen:

Hierbei wurde versucht, die Blutströmung osmotisch zu beeinflussen. Es wurden Lösungen mit einem NaCl-Gehalt von 0,1 0,5 1,0 1,5 2,0 3,0 7,0 und 8,0 % benutzt bei einer Temperatur von 38° C.

Hypotonische Lösungen verändern die Blutströmung meist nur wenig und führen nur manchmal zur Stase in der Endstrombahn und zur Peristase in größeren Venen, besonders dann, wenn die Lösung stärker hypotonisch ist. Der Gefäßinhalt wird dabei in den Kapillaren hellrosa und ist teilweise infolge einer Hämolyse nur noch schwach sichtbar. An einigen Stellen sind die Kapillaren im Hellfeld sogar unsichtbar. Erst im Phasenkontrast werden die Kapillaren wegen der guten Darstellbarkeit der Gefäßwände wieder sichtbar. Die Gefäßkaliber werden durch hypotonische Lösungen kaum verändert.

Bei dem Versuch durch physiologische Kochsalzlösung die Stase in der Endstrombahn wieder aufzulösen, wird das Blut in den Gefäßen meist wieder roter, die Kapillaren werden im Hellfeld wieder sichtbar, aber die Stasen lösen sich nur selten auf. Nur an wenigen Stellen stellt sich eine Normalisierung der Blutströmung ein. Die feinen Gefäße bleiben von strukturlosem rotem Blut prall ausgefüllt. Die Peristase in den größeren Gefäßen wird gebessert, d.h. die Strömung wieder etwas beschleunigt, aber nur selten normal.

Durch gering hypertonische Lösungen (1-1,5 %) werden nur selten Stasen erzeugt. Die vasomotorischen Reaktionen sind sehr unterschiedlich, mal kann die Kontraktion, mal die Dilatation in Arterien überwiegen. Alle anderen Gefäße sind kaum beeinflusst.

Durch hypertonische Kochsalzlösung von 2 - 3 % kommt es dagegen regelmäßig zur Ausbildung von Stasen in der Endstrombahn und zu Peristasen in den vorgeschalteten

Gefäßen, besonders in Venen. Nach Beträufeln des Mesenteriums kommt es sofort überall zur Peristase und nach 30 - 60 Sekunden zur Stase in den Kapillaren. Diese Stasen erfassen nach und nach immer mehr Anteile der Endstrombahn, bis nach 10 Minuten nur noch die größeren Gefäße durchströmt sind. Durch weiteres Beträufeln mit hypertotonischer Lösung ändert sich das Bild nicht mehr. Wird jetzt aber mit physiologischer oder gering hypertotonischer Lösung gespült, so wird die Peristase in den großen Gefäßen abgeschwächt und die Strömungsgeschwindigkeit überall erhöht, ohne daß die Gefäßkaliber weiter werden. Nach und nach lösen sich alle Stasen in den Endstrombahnen auf, nach ca. 10 Minuten ist das Mesenterium wieder normal durchströmt, ohne irgendwelche Zeichen der Beeinträchtigung zu hinterlassen. Das Lösen der Stase gelingt hier eigentlich immer, auch wenn die hypertotonische Lösung schon länger als 30 Minuten eingewirkt hat. Nach Lösung der Stase kann durch erneute Zufuhr von hypertotonischer Lösung wieder eine Stase erzeugt werden. Die abwechselnde Staseerzeugung und-lösung läßt sich beliebig wiederholen, ohne daß sich die Gefäßfunktion im übrigen ändert. Die Durchmesser der Arterien werden nur ungleichmäßig verändert.

Bei Flüssigkeiten mit 7 - 8 % Kochsalzgehalt kommt es schlagartig zur Ausbildung von Stasen, die sich meist nicht wieder auflösen lassen. In den größeren Gefäßen stellt sich eine stark ausgeprägte Peristase und häufiger sogar ein Blutstillstand ohne Zeichen der Stase ein. Nur selten kann durch nachträgliches Spülen mit physiologischer Lösung eine normale Durchströmung wiederhergestellt werden. Die größeren Arterien werden bei Verwendung einer hochprozentigen Kochsalzlösung manchmal kontrahiert, jedoch auch gelegentlich erweitert. Bei der osmotischen Beeinflussung des Gefäßsystems kommt es zur Stase und Peristase, aber nie zu einer Gerinnung.

Reize durch andere Salzlösungen (vgl. ILLIG (1953))

Bei diesen Versuchen wurde das Mesenterium mit physiologischer Kochsalzlösung und mit den Salzlösungen (Veronal-Natrium 1 % und 6 %, Sublimat 0,01 % und 0,05 %, Argentum mitricum 0,02 %) alternierend behandelt. Durch Aufträufeln dieser verschiedenen Lösungen können nach ILLIG (1953) ebenfalls Stasen in der Endstrombahn und Peristasen in größeren Gefäßen erzeugt werden. Im allgemeinen verhalten sich die Gefäße wie in den bisher geschilderten Versuchen. Einige Auffälligkeiten sind jedoch hervorzuheben: Bei 0,01 %iger Sublimatlösung läßt sich das sludge-Phänomen in verschiedenen größeren Gefäßabschnitten beobachten. Stasen durch Veronal-Natrium-Lösung (1 %) sind selten und nur vorübergehend, sie lösen sich stets schnell spontan. Durch Silbernitrat-Lösung sind dagegen nicht wieder lösbare Stasen zu erzeugen. Auch die größeren Arterien zeigen häufiger spindlige Kontraktionen, die sonst nur bei stärksten Reizen gesehen werden. In großen Venen kommt es hier manchmal zum Blutstillstand ohne typische Zeichen der Stase.

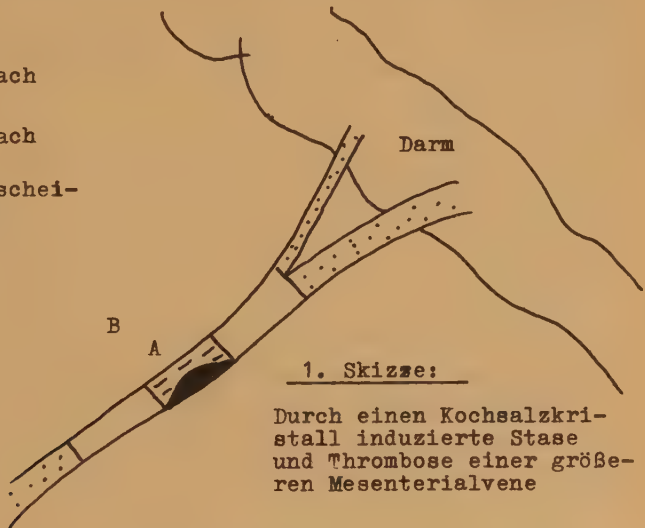
Bei diesen Versuchen ist der Ablauf der Stase nicht annähernd so übersichtlich und regelmäßig zu beobachten, wie bei den Versuchen mit Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration. Die Veränderungen sind nach gleichem Reiz viel unterschiedlicher, treten plötzlicher auf und sind weniger gut reversibel. Auch unter diesen Bedingungen werden niemals Thrombosen gesehen.

Reize durch Kochsalzkristalle:

Nach Anfeuchtung des Mesenteriums mit physiologischer Kochsalzlösung wurde ein kleiner Kochsalzkristall mit einer Nadel der Wand einer radiär zum Darm verlaufenden größeren Vene direkt aufgelegt. Der Kristall wird nach einigen Minuten aufgelöst, ein etwa nicht gelöster Rest nach spätestens 5 Minuten fortgespült.

Etwa 30 Sekunden nach Auflegen des Kristalls wird eine zunehmend dunkelrote Färbung des Blutes mit einer Verlangsamung der Blutströmung in der Vene wahrgenommen. Innerhalb weiterer 30 Sekunden kommt es zum Blutstillstand in dem Gefäßabschnitt, der mit dem Kristall in Kontakt gekommen ist und bald zur Verlegung des Gefäßlumens. Diese Zone wird schnell strukturlos und lackfarben durchscheinend wie bei der Stase und nimmt an Ausdehnung zu. Bald ist ein größerer Abschnitt der Vene von diesem leuchtend roten "Gerinnungsprodukt" prall ausgefüllt. Der Salzkristall hat nach beiden Seiten etwa gleichmäßig in einer Ausdehnung von mehreren Millimetern eine intravasale Blutverfestigung induziert. Jenseits dieses Bezirkes stagniert das Blut, die einzelnen Erythrocyten sind aber gut abgrenzbar und anscheinend unverändert (s. Skizze).

- A: Stasebezirk nach 50 Sekunden
- B: Stasebezirk nach 4 Minuten
- C: Ausmaß des Abscheidungsthrombus



Nach Entfernung des Salzkristalls 5 Minuten später und nach Bespülung des Mesenteriums mit reichlich physiologischer Kochsalzlösung wird bald darauf der rote Bezirk

mit verfestigtem Blut wieder etwas heller und löst sich langsam von der Mitte des Gefäßes her auf. Die Strömung kommt zuerst etwas stockend im axialen Anteil des Gefäßes in Gang, bis schließlich das verfestigte Blut aufgelöst und in kleinen Klümpchen fortgespült worden ist. Die Strömung ist jetzt wieder relativ schnell, aber peristatisch, bis nach weiteren 60 - 90 Sekunden an der Stelle, der zuvor der Salzkristall aufgelegt hat, eine schnell an Dicke zunehmende Verbreiterung der Gefäßwand auffällt, die aber das Gefäßlumen nicht verlegt. Ein Abscheidungsthrombus hat sich nach histologischer und elektronenmikroskopischer Kontrolle gebildet. Dieser Thrombus nimmt aber nur einen erheblich kleineren Raum ein als vorher die Stase. In einem Versuch entstand durch einen Kochsalzkristall sogar ein das Gefäß obturierender Thrombus. In diesem Falle kam es zum Strömungsstillstand vor dem Hindernis und später im thrombusnahen Anteil in einem größeren Abschnitt zu lackfarbener Veränderung des Blutes.

Ligatur einer großen Vene:

ILLIG (1953) beschreibt auch Staseentstehung nach Unterbindung von Pankreasvenen. Wir haben eine große vom Darm zur Mesenterialwurzel verlaufende Vene isoliert unterbunden, ohne sie zu verletzen (s. Abb. 1). Vor der Ligatur tritt keine Gerinnung auf. Die der großen Vene zufließenden Gefäße sind zunächst stark gefüllt, zeigen Strömungsverlangsamung und teilweise sogar Strömungsstillstand, jedoch keine Stase. Bald danach stellt sich eine Umkehr der Strömung in fast allen diesen Venen und sogar in der ligierten Hauptvene ein. Die Kapillaren in unmittelbarer Nähe der Unterbindung sind frei von Stasen.

II. Zusammenfassung der Versuche und Diskussion

=====

Die geschilderten Versuche zeigen, daß das Gefäßsystem auf unterschiedliche Reize stets ähnlich reagiert. Dabei werden Änderungen der Gefäßweite, der Strömungsgeschwindigkeit sowie Erscheinungen der Blutverfestigung beobachtet. Diese Reaktionen treten nach Reizung entweder isoliert oder miteinander kombiniert auf.

Vorgänge der Blutverfestigung, wie Stasen und Thrombosen, treten ziemlich gesetzmäßig nach Reizen gleicher Art und Stärke auf, während vasomotorische Gefäßreaktionen in unterschiedlicher Ausprägung hervortreten. Nach völlig gleichgearteten Reizen wird teils Kontraktion, teils Dilatation der Gefäße beobachtet; manchmal sind auch überhaupt keine Kaliberänderungen wahrnehmbar.

Es erhebt sich die Frage, inwieweit sich diese verschiedenen Reaktionen gegenseitig beeinflussen und vielleicht sogar bedingen.

RICKER (1921) hat in seinem Stufengesetz Beziehungen zwischen Reizstärke und Gefäßreaktionen aufgestellt. Er fand bei steigender Reizstärke gesetzmäßige Kaliberänderungen der Gefäße und bei stärksten Reizen Stasen. Allen Stasen ging eine starke Gefäßdilatation voraus, die als Gefäßwandparalyse gedeutet wurde. RICKER erklärte die Stase vorwiegend als Folge vasomotorischer Reaktionen.

Dieser Vorstellung wurde später vielfach widersprochen (TANNENBERG, 1925; WEBER, 1954; ILLIG, 1953-55). Schon THOMA (1878) hatte vasomotorische Reaktionen als alleinige Ursache der Stase abgelehnt.

ILLIG (1955) hat das Problem der Stase eingehend experimentell zu ergründen versucht und alle bis dahin erörterten Theorien kritisch beleuchtet. Zwei grundsätzlich verschiedene Auffassungen von der Pathogenese der Stase

werden vertreten. Während die deutschen Forscher überwiegend das Schwergewicht auf den primären Gefäßeinfluß legten, sahen die Amerikaner (ZUCKER, 1947; KNISELY u. Mitarb., 1947; BIGELOW u. Mitarb., 1949) mehr "Gerinnungsvorgänge" sowie intravasculäre Agglutination von Erythrocyten und physikalisch-chemische Veränderungen des Gesamtblutes als wesentlich an. Auch TANNENBERG (1925) neigte dazu, die Veränderung des Blutes als unmittelbare Antwort auf den Reiz anzusehen.

Andere deutsche Untersucher waren sich einig, daß bei der Stase auf die Gefäßwand besonderes Augenmerk zu richten sei, aber ihre Vorstellungen wichen trotzdem sehr voneinander ab. Wie schon erwähnt, stellte RICKER (1921) z.B. vasomotorische Einflüsse in den Vordergrund, während COHNHEIM (1867) und KROGH (1924)⁺ mehr funktionelle Schäden der Gefäßwand vermuteten, ähnlich denen, die zur Diapedese von Blutzellen führt. WEBER (1954) und SAMUEL (1867-70) dagegen hielten morphologische Schäden der Gefäßwand für wichtig.

Unwid ersprochen blieben alle Deutungen nicht und machen dadurch deutlich, wie schwer eine Aussage über Ursache und Wirkung ist. Ein Ausschließlichkeitsbeweis einer dieser Theorien ist bis heute nicht erbracht. Allerdings sprechen ILLIG's Untersuchungen am ehesten dafür, daß es sich primär um einen morphologischen Gefäßwandschaden handelt, der die Veränderungen des Blutes erst nach sich zieht. ILLIG konnte den Schaden der Gefäßwand zwar nicht histologisch beweisen, aber bei der Lebenduntersuchung erkennen, daß alle exogenen Einflüsse, die zur Stase führen, einen gewebereizenden Einfluß haben. Er sah Aufquellung der Gefäßwände und Oedem im umgebenden Mesenterialgewebe. Die Tatsache, daß ILLIG Stasen niemals in arteriellen Gefäßen gesehen hat, wird auf einen auslösenden Gefäßwandfaktor

⁺)KROGH (1924) zitiert nach ILLIG (1955).

zurückgeführt, denn das Blut ist in den Arterien sicherlich von dem in den Venen nicht so verschieden, daß dadurch eine unterschiedliche Reaktionsweise erklärbar wäre.

Stasen waren auch in ILLIG's Versuchen leicht reversibel. Eine Erhöhung des Blutdruckes z.B. durch Effortil machte die Gefäße in Stase wieder durchströmbar. Bei erneutem Blutdruckabfall kam es dann immer wieder an der gleichen Stelle zur Auslösung von Stasen, ein Argument mehr für die Bedeutung der primären Gefäßwandalteration.

Die Veränderungen des Blutes (Viscositätszunahme, lackfarbene Färbung und Homogenisierung) werden erst als Folge der Gefäßwandschädigung angesprochen. Die Tatsache, daß die Stase sich schnell wieder auflösen kann und intakte Erythrocyten aus ihr hervorgehen, spricht gegen eine echte Gerinnung, also gegen das Auftreten von Fasern im Staseblut. ILLIG vertritt die Ansicht, daß der Gefäßwandschaden zu einer gesteigerten Permeabilität führt, wodurch Plasma das Gefäß verlassen kann, während die verbleibenden Blutzellen auf Grund elektrostatischer Vorgänge verklumpen.

Die eigenen Versuche lassen sich mit ILLIG's Vorstellungen über die Staseentstehung weitgehend in Einklang bringen. Die Tatsache jedoch, daß sich Stasen häufig schnell wieder lösen, ja sich sogar sehr einfach beliebig oft erzeugen und lösen lassen, spricht eigentlich gegen einen morphologischen Gefäßwandschaden, denn dieser könnte nicht so schnell behoben werden. Die schwachen osmotischen Reize führen wahrscheinlich nur zur Quellung und Entquellung der Gefäßwand, wodurch Permeabilität und Diapedese gestört werden. Dadurch scheint die Stase begünstigt zu werden. Bei diesen Reizen tritt wahrscheinlich eine Funktionsstörung der Gefäßwand auf.

Anders sind die Verhältnisse bei starken Reizen durch hochkonzentrierte Lösungen. Hier kommt es sehr wahr-

scheinlich zu echten Gefäßwandschäden und damit zur anhaltenden Permeabilitätsstörung und zur irreversiblen Stase.

ILLIG's Vorstellungen über die Stase können unseren Untersuchungen angeglichen werden. Stasen kommen bei morphologisch faßbaren Gefäßwandschäden vor und sind irreversibel, wenn nicht Blutdruck oder Strömungsgeschwindigkeit in der terminalen Strombahn zusätzlich verändert werden. Stasen kommen aber auch bei kurzfristigen Funktionsstörungen der Gefäßwand vor und stellen in diesem Falle reversible und vorübergehende Durchblutungsstörungen im Bereich der terminalen Strombahn dar.

Das Aussehen des in Stase befindlichen Gefäßes ist dabei immer gleich. Morphologisch allein kann nichts über Ursache und Mechanismus der Stase ausgesagt werden.

Kaliberänderungen der Gefäße treten auch in unseren Versuchen immer wieder auf. Ein gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen vasomotorischen Reaktionen und Peristase oder Stase kann jedoch ebenso wie bei ILLIG nicht ermittelt werden.

Besonders interessant ist der Versuch mit dem Kochsalzkristall, wobei sich zunächst eine intravasale Verfestigung eingestellt hat, die als Stase bezeichnet werden kann, obwohl sie sich jenseits der Endstrombahn befindet. Alle Kriterien der Stase sind hier erfüllt, zumal mit physiologischer Kochsalzlösung sogar eine erneute Durchströmung des Gefäßes erreicht werden kann. Es ist wohl von der Reizstärke abhängig, ob sich Stasen auch in großen Gefäßen ausbilden können. Auch COHNHEIM (1867) und TANNENBERG (1925) beschreiben Stasen außerhalb der Endstrombahn.

Der Versuch mit dem Salzkristall ist noch in anderer

Hinsicht interessant. Nach Lösung der Stase besteht über längere Zeit eine Peristase. Erst nach einer Latenzzeit entsteht ziemlich plötzlich ein Abscheidungs-thrombus in einem sehr eng umschriebenen Bezirk, der viel kleiner ist als der Bereich der vorausgegangenen Stase.

Eine Thrombose tritt nach SCHIMMELBUSCH (1886), DIETRICH (1934-37) und anderen dann auf, wenn ein Gefäßwand-schaden und Strömungsverlangsamung gleichzeitig vor-liegen. BAUMGARTNER (1963) lehnt sogar die Strömungs-beeinträchtigung ab und sieht einen Gefäßwandschaden allein als auslösenden Faktor an.

Könnte die Gefäßwand am Ort der Kristallanlagerung einen Schaden erlitten haben?

Der Salzkristall ist in fünf Minuten durch Auflösung sichtbar kleiner geworden und hat konzentrische Ringe mit hoher Kochsalzkonzentration entstehen lassen. Gleich weit vom Kristall entfernte Punkte haben etwa die gleiche Konzentration, die um so höher ist, je geringer der Ab-stand vom Zentrum ist und je mehr Zeit bis zur Auflösung des Kristalls verstrichen ist. Dadurch ist zuerst die Stase unmittelbar um den Kristall entstanden und hat dann nach beiden Seiten gleichmäßig an Ausdehnung zu-genommen. Die Salzkonzentration ist in der Wand unter dem Kristall am höchsten und am längsten einwirkend, kann dadurch also die Wand ohne weiteres schädigen.

Nach Abspülung des Kristalls wird das Gefäß durchströmt. Es kommt aber nicht sofort an der Stelle der stärksten Wandschädigung, sondern erst nach 60 - 90 Sekunden schnell zunehmend zur Abscheidung von Thrombocyten und Fibrin.

Damit wird ein Problem berührt, das zum folgenden speziellen Teil der Arbeit hinführt, der sich mit der Entstehung und Morphologie von Abscheidungsthromben befassen soll.

C. Spezieller Teil: Extravasale Gerinnung

In den bisher dargestellten Versuchen gelang es nur mit Kochsalzkristallen Thromben in einer größeren Vene zu erzeugen. Die Methode der Erzeugung dieser Thromben ist aber ziemlich kompliziert und deswegen zur genauen Analyse der Entwicklung des weißen Thrombus wenig geeignet. Eine viel einfachere Darstellung von Abscheidungsthromben gelingt durch verletzungsbedingte Blutung aus Gefäßen. APITZ (1941) bewies histologisch die Identität eines Verschlußgerinnsels bei einer Gefäßverletzung mit dem intravasal entstehenden weißen Thrombus. Deswegen haben auch wir den Verletzungsthrombus als Modell eines Abscheidungsthrombus benutzt.

I. Verletzungsthromben im Kapillarmikroskop

=====

1. Verletzung verschiedener Gefäße

Bei gleicher Versuchsanlage (s. Seite 5) wurden verschiedene Gefäße mit feinsten selbst zugeschliffenen Nadeln verletzt oder mit der Rasierklinge durchschnitten. Die Blutstillung erfolgt stets in gleicher Weise und unterscheidet sich nur durch Blutungszeit, Form und Größe des Thrombus sowie durch die unmittelbar im Zusammenhang mit der Verletzung stehenden Gefäßveränderungen.

Bei einer offenen Verletzung kommt es nach einer mehr oder weniger langen Blutungszeit zur Ausbildung eines grau-weißlichen etwas glasig aussehenden Gerinnsels, das den Defekt verschließt und der Gefäßwand ziemlich fest anhaftet. Dieses kompakte Gebilde wird in der Peripherie von einem oft langen fädigen Gerinnsel von roter Farbe und unterschiedlicher Form umgeben (ZAHN, 1875; SCHIMMELBUSCH, 1886; APITZ, 1941) (s. Abb. 2). Öfter ist aber die Gerinnung unübersichtlich, weil um-

gebendes Gewebe den Defekt teilweise abdeckt und das austretende Blut das Gewebe durchtränkt. Es kommt nur zu einem mehr oder weniger großen Hämatom, in dem sich ein Verletzungsthrombus nicht erkennen läßt. Durch die Ausbildung eines Hämatoms wird die Blutung viel schneller gestoppt als durch Thrombenbildung, weil durch den zunehmenden Gewebsdruck der Gefäßdefekt bald tamponiert wird.

Es interessierte uns nur die gut übersehbare Blutstillung mit abgrenzbaren Verletzungsthromben.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die verschiedenen Gefäßabschnitte des Mesenteriums in vier Gruppen unterteilt. Es wurden jeweils gleichartige Gefäße mit etwa entsprechendem Durchmesser zu einer Gruppe zusammengefaßt. Nur so können Vergleiche sinnvoll sein, weil Blutdruck und Strömungsgeschwindigkeit einen wesentlichen Einfluß auf Blutungsdauer und andere Größen haben und nur in etwa gleichartigen Gefäßen wenigstens annähernd ähnliche Verhältnisse herrschen. Als Blutungszeit gilt die Zeit, die zwischen Verletzung und dem Aufhören der Blutung verstreicht, ohne Rücksicht auf eventuelle nach dem Stop spontan auftretende Nachblutungen. Diese werden besonders vermerkt, aber zeitlich nicht weiter bestimmt. Die so festgelegte Blutungszeit hat sich deshalb bewährt, weil im Gegensatz zu WITTE u. Mitarb. (1960) spontane Nachblutungen relativ selten und nur an arteriellen Gefäßen beobachtet werden. Jedes verletzte Gefäß wurde außerdem über mindestens 30 Minuten fortlaufend beobachtet und besonders auf Nachblutungen oder sonstige Veränderungen am entstandenen Gerinnsel geachtet.

Verletzung kleinkalibriger Venen

Diese Gefäße hatten einen ungefähren Durchmesser von 16 - 50 μ und wurden ausnahmslos mit der Nadel verletzt.

Selten kam es durch den Stich zur Kontraktion der Gefäße oder zu anderen vasomotorischen Reaktionen. Meistens gelang die Verletzung sehr leicht, allerdings kann das Gefäß auch zerreißen. Es blutete aus einem kapillarnahen peripheren Gefäßstumpf länger als aus einem in einen großen Venenstamm einmündenden Teil. Lag die Verletzung jedoch sehr dicht vor der Einmündung in eine größere Vene, verhielt es sich umgekehrt. Die Blutungszeit betrug durchschnittlich 40 Sekunden, Nachblutungen waren äußerst selten (s. Tab. 1). Die Thromben saßen den Gefäßenden meist deckelförmig auf und ragten nur selten weit in die Venenlichtung hinein. Sie hatten oft annähernd kugelige Form mit unterschiedlichem Durchmesser.

Beim Zerreißen einer feinen Vene mit der Nadel kam es manchmal zur Verklebung der Gefäßwände eines Stumpfes, ehe Blut ausfließen konnte. Hin und wieder wurden hinter einer solchen Verklebung oder hinter einem Verschlußthrombus Stasen in den peripheren Gefäßstäufen beobachtet, besonders wenn die Kapillaren wenig Verbindung zu Nachbargefäßen aufwiesen. Die Stasen waren nicht immer fixiert, sondern lösten sich, wobei Kapillaren in der Umgebung des in Stase befindlichen Gebietes plötzlich eröffnet wurden und das Blut unter Strömungsumkehr abfließen ließen.

Es fiel auf, daß Gefäße um so länger bluteten, je stockender vorher der Blutstrom war. Wurde ein Gefäß in Stase verletzt, so quoll zunächst träge eine zähe Masse heraus, bis nach einigen Sekunden die Strömung in Gang kam und normale Blutstillung durch einen Verletzungsthrombus folgte.

Tabelle 1

Gefäßdurch- messer (μ)	35	40	40	40	48	40	32	40	16	40	32	40	32	48	40
Blutungs- dauer (sec)	24	10	20	46	29	33	44	39	28	91	34	22	39	54	35
Thrombus- ⁺⁾ größe (μ)	140	80	110	190	160	180	160 180	200	85	190 230	120 130	100	125	250 300	150
Nachblutungen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1x	-	-	-	-

+) In allen Tabellen ist als Thrombusgröße nur der defektnahe körnelige Anteil angegeben.

Verletzung großkalibriger Venen

Die Gefäße hatten einen Durchmesser von 80 - 225 μ und konnten ebenfalls ausnahmslos mit der Nadel verletzt werden. Auf den Stich reagierten die großen Venen öfter mit geringfügiger spindelförmiger Einziehung. Die Verletzung gelang äußerst leicht und führte nur sehr selten zur Zerreißung des Gefäßes. Meistens kam es zu einem zunächst gut sichtbaren Defekt in der Gefäßwand, aus dem in kurzer Zeit soviel Blut ausströmte, daß das ganze Präparat unübersichtlich wurde und mit physiologischer Kochsalzlösung mehrfach gespült werden mußte. Einige Verletzungen bedurften aber der Spülung nicht; ein Vergleich der Blutungszeiten läßt erkennen, daß die Spülung anscheinend die Gerinnung nicht beeinflußt hat, denn die Blutungszeit lag bei allen Versuchen nahezu konstant bei 45 Sekunden (s. Tabelle 2).

Tabelle 2

Gefäßdurch- messer (μ)	160	80	144	192	160	160	184	200	160	200	216	200	224	160	120
Blutungs- dauer &(sec)	45	44	64	45	43	50	43	44	42	45	48	46	40	45	43
Thrombus- größe (μ)	400 800	320 450	400 650	-	200 800	300 900	600 800	1100	400 700	300 1000	800 1000	1000 1200	200 1200	-	400 800
Nachblutun- gen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Die Thrombenform war sehr unterschiedlich, teils mehr länglich oder rund, teils bizarr und ausgefranst. Häufiger lagen auch Anteile des Thrombus intravasal, obturierten jedoch nur sehr selten die Lichtung. Dennoch kam es dadurch öfter zu peristatischer Hyperämie. Wenn ein intravasal entstandener Thrombus das Gefäß verschlossen hatte, kam es zunächst zum Strömungsstillstand, nicht aber zur Stase. Erst sehr viel später stellte sich Strömungsrichtungskehr über Kollateralen ein. Die Thrombengröße ließ sich wegen der unterschiedlichen Form nur ungenau bestimmen. Spontane Nachblutungen traten auch hier fast nie auf, jedoch konnte durch Berührung mit der Nadel der frische Thrombus oft leicht beschädigt und dadurch eine Nachblutung erzeugt werden. War der Thrombus aber schon älter als 5 Minuten, so ließ er sich auch durch Zerren mit der Nadel kaum lösen. Provozierte Nachblutungen waren sehr selten. Durch die massive Blutung, die zur Thrombose geführt hatte, kam es immer zu deutlicher Verengung der Vene in ihrer ganzen übersehbaren Länge, die manchmal bis auf die Hälfte ihres vorherigen Durchmessers verkleinert war. Auch nach 30 Minuten hatte sich dieser Kaliberverlust nur wenig ausgeglichen. Die übrigen Venen waren nur unwesentlich ver-

Eine eigenartige Beobachtung verdient Erwähnung. Etwa 30 Sekunden nach Verletzung einer Vene, also noch während der massiven Blutung, kam es an der danebenliegenden Arterie an umschriebener Stelle regelmäßig zu einer spindelförmigen Verengung, die erst nach 2 Minuten langsam wieder gelöst wurde. Die Arterie schien auch in ihrer gesamten Länge etwas verengt, die konische unmittelbar der Blutung benachbarte Einziehung war aber deutlich davon abzugrenzen. Eine direkte Berührung der Arterie bei der Verletzung der Vene ist sicher auszuschließen.

Verletzung großkalibriger Arterien

Die großen Arterien hatten einen Durchmesser von 80 - 100 μ . Schon die Berührung dieser Arterie mit der Nadel führte zu einer starken Kontraktion, die sich nach Minuten erst wieder löste. Eine Verletzung mit der Nadel gelang wegen der Elastizität der Gefäßwand fast nie. Deshalb wurden Verletzungen mit der Rasierklinge gesetzt. Dadurch wurde aber meist das Gefäß total durchtrennt und oft auch der Arterienstumpf aufgerollt, was die Beobachtung der Gerinnung sehr erschwerte. Der blutende Gefäßstumpf war meist stark verengt, das Blut spritzte in scharfem Strahl heraus, so daß nach kurzer Zeit die Sicht nur wieder durch Spülungen möglich war. Die Blutungsdauer war gegenüber den anderen Versuchen erheblich verlängert und betrug durchschnittlich 125 Sekunden (s. Tabelle 3).

Tabelle 3

Gefäßdurchmesser (μ)	160	80	120	80	120	180	100	80	120	160	160	140	110	120	150
Blutungsdauer (sec)	180	-	118	120	150	-	130	110	100	120	130	130	75	140	110
Thrombus- [†] größe (μ)	-	verblutet	500 800	400 500	800 900	verblutet	500	250 300	500	600 900	800 1000	600 700	300	700	700
Nachblutungen	>4x		4x	2x	1x		-	2x	>4x	3x	4x	2x	-	3x	1x

Häufiger kam es zu spontanen Nachblutungen, besonders wenn durch Bespülung der bereits gebildete Thrombus mit dem Wasserstrahl berührt wurde. Die Haftung des Thrombus am Gefäßstumpf schien wesentlich labiler zu sein als bei den Venen; denn auch wenn das Gerinnsel nur leicht mit der Nadel berührt wurde, kam es ebenfalls zu starken Nachblutungen.

Wieder waren die frischen Thromben empfindlicher gegen mechanische Alteration als ältere. Im ganzen schien die Verstopfung des Defektes durch den Thrombus viel weniger fest zu sein als bei den Venen.

Der Thrombus hatte meist in seinem gefäßnahen grauen Anteil eine kugelige Form, der fädige Anteil war sehr lang und wies in die Richtung der vorausgegangenen Strahlblutung. Die Thrombusgröße war unterschiedlich und dadurch nur im grauen Teil zu messen. Manchmal kam es zu einer so massiven Blutung, daß das Tier bald kollabierte und verblutete, ehe Blutstillung erreicht werden konnte. Durch wiederholtes Nachbluten stellten sich schwere Schockzustände ein. Nach allen Blutungen, die nach geraumer Zeit durch einen Thrombus gestillt worden waren, sah man in allen Anteilen des Gefäßsystems eine stärkere gleichmäßige Kaliberverengung, viele Kapillarstrecken waren nur sehr spärlich durchblutet und oft nicht mehr im Hellfeld sichtbar.

Verletzung kleinkalibriger Arterien

Die kleinen Arterien hatten Durchmesser von 20 - 40 μ und ließen sich ebenfalls nicht einfach verletzen. Auf Stich mit der Nadel zeigten sie wie große Arterien ebenfalls spindelförmige Kontraktionen, die aber oft viel länger bestehen blieben. Verletzungen mit der Nadel gelangen nur selten und führten nie zur Blutung, allenfalls zum Austreten weniger Erythrocyten, die der Nadel unmittelbar folgten. Thrombenbildung wurde nach einem derartigen Stich niemals weder intravasal noch extra-

vasal gesehen. Auch mit der Rasierklinge ließen sich die feinen Arterien nur schwer verletzen und bluteten nur nach totaler Durchschneidung. Durch den Druck des Messerchens hatten sie sich dabei meist maximal kontrahiert, so daß die Gefäßstümpfe nach der Durchtrennung erst nach einigen Sekunden zu bluten begannen. Dann kam es nach ca. 40 Sekunden dauernder spritzender auch ohne Spülung gut übersehbarer Blutung zu ruckartiger Strahlblutung und danach sehr plötzlich zum Verschuß durch den fertigen Thrombus. Der Thrombus war rundlich geformt mit einem langen roten faserigen in Richtung der Blutung weisenden Anteil. Der Durchmesser betrug etwa das zwei- bis zehnfache der Gefäßweite. Nachblutungen wurden auch hier oft beobachtet. Auch kurzzeitige Sickerblutungen durch den Thrombus, wobei nur einige Erythrocyten austraten, wurden gelegentlich beobachtet. Der thrombosierte Gefäßstumpf war nach einiger Zeit nur noch von Plasma ausgefüllt, in dem einige Zellen pulsationsrhythmisch hin- und hergewirbelt wurden.

Tabelle 4

Gefäßdurchmesser (u)	20	40	30	20	35	40	35	35	40	30	20	40	35	25	40
Blutungs- dauer (sec)	44	60	20	24	12	15	24	42	145	25	35	35	-	27	25
Thrombus- größe (u)	250 350	400 500	250	80 120	-	150	280	350 500	400 650	120	135	180	-	120	80 300
Nachblutungen	-	-	4x	1x	-	>4x	2x	-	>4x	2x	1x	-	-	2x	-

2. Zusammenfassung der Ergebnisse

Aus den Untersuchungen kann gefolgert werden, daß die Blutungszeit bei gleichmäßiger Verletzung, wie sie sich hier besonders an großen Venen setzen ließ, nahezu konstant ist und etwa 45 Sekunden dauert. Dabei weichen die Meßergebnisse nicht unerheblich von denen WITTE's

(1960) ab, der eine durchschnittliche Blutungszeit an Venen und Arterien des Rattenmesenteriums von 160 Sekunden ermittelt hat. Größere Arterien bluteten in den eigenen Versuchen auch meist länger als entsprechend große Venen. Aus den Tabellen kann ferner geschlossen werden, daß die Blutungszeit um so größer ist, je stärker die vis a tergo zur Wirkung kommt. Blutungen aus kleineren Arterien, in denen ein niedrigerer Druck herrschen dürfte, werden deswegen schneller gestillt als Blutungen aus großen Arterien mit höherem Druck. Auch spontane Nachblutungen sind aus Gefäßen mit höherem Druck viel häufiger als aus entsprechenden Venen, bei denen weniger Druck- und Scherkräfte auf den Thrombus einwirken und auch geringere Druckschwankungen durch Systole und Diastole gegeben sind.

Die Thrombengröße bei Totaldurchtrennung von Gefäßen ist vom Gefäßkaliber und von der Blutungszeit in gewisser Weise abhängig, also damit auch von der Menge des ausfließenden Blutes. Allerdings wird bei überdurchschnittlich langer Blutung der Thrombus in seinem defektnahen körneligen Anteil nicht wesentlich größer als bei mittlerer Blutungszeit. Er wächst also nicht ins Unermeßliche, sondern ist in der Größe immer dem Defekt entsprechend angepaßt, also so groß, daß er den Defekt verschließen kann. Venen und Arterien gleicher Größe haben deswegen trotz unterschiedlicher Blutungszeit einen nahezu gleichgroßen Verschlußthrombus. Die Form der Thromben ist dagegen unterschiedlich, und zwar besonders im gefäßfernen fädigen Anteil. Dieser ist bei arteriellen Thromben länger und größer als bei Venen. Alle Thromben scheinen aber gleich nach ihrer Entstehung gegen mechanische Alteration viel anfälliger zu sein als später. Der junge Thrombus ist stets weniger stabil als der ältere. Die Blutströmung wird durch den Thrombus nur bei einer Obturation stärker beeinflußt. In diesem Falle kommt es peripher oft zur

Stagnation des Blutes, jedoch fast nie zur Stase, ein Anhalt mehr, daß diese sich nur dann einstellt, wenn zu einer Strömungsbeeinträchtigung noch andere Faktoren (Gefäßwandschäden) hinzukommen.

Im Dünndarmmesenterium der Maus ist der Kollateral-kreislauf sehr gut ausgebildet, denn nach Gefäßverlegung durch einen Thrombus kommt es sehr häufig zur Umkehr der Strömungsrichtung nach vorherigem passagerem Stop.

Ein eigenartiges Phänomen, nämlich das der Kontraktion der zugehörigen Arterie bei Verletzung großer Venen, bedarf noch einer kurzen Erörterung. CHEN u. Mitarb. (1948), ZUCKER u. Mitarb. (1947 und 1955) sowie WITTE (1960) haben ähnliches beobachtet und machen das Serotonin, das aus den zerfallenden Thrombocytengranula freiwerden soll, für diese Kontraktion verantwortlich. WITTE (1961) versucht jedoch zu beweisen, daß dem Serotonin allein diese Wirkung nicht zukommen kann, denn er sah auch Kontraktionen von Nachbargefäßen bei den Tieren, die mit Serotoninantagonisten (Reserpin u.a.) behandelt worden waren. In diesem Sinne spricht auch der Befund, daß hohe Dosen von auf das Mesenterium durch die Spülflüssigkeit aufgeträufeltem Serotonin keine nennenswerte Kontraktion der Arterie auszulösen vermag.

Bei der Thrombenbildung werden aus Thrombocyten aber außer Serotonin noch andere Substanzen freigesetzt, nämlich aktive Thrombokinase und nach BETTEX u. Mitarb. (1961) auch in großer Menge Adenosintriphosphat. Vielleicht ist das Zusammenwirken mehrerer pharmakologisch wirksamer Substanzen für das Auftreten der Arterienkontraktion verantwortlich.

Es könnte jedoch auch eine mechanische Ursache für die arterielle Kontraktion erwogen werden. Das mit gewisser Gewalt aus der Vene ausströmende Blut prallt auf die Arterienwand und führt vielleicht durch direkten Muskelreiz zu einer Erregung. Dabei dürfte der Reiz zunächst unerschwellig sein, jedoch könnte es nach einer gewissen

Dauer (30 Sekunden) durch Summation der Einzelreize zur muskulären Kontraktion kommen.

Damit wird aber nicht erklärt, warum es nur an der der Vene parallel verlaufenden Arterie zu einer spindel-förmigen Kontraktion kommt, obwohl andere in unmittelbarer Nähe liegende Arterien ebenfalls von ausströmendem Blut getroffen werden, aber nicht in dieser Art reagieren. Auch alle anderen in der Nähe der Blutung befindlichen Arterien müßten durch aus dem Thrombus freiwerdende Substanzen beeinflußt werden können. Tatsächlich ist aber ausschließlich die Arterie betroffen, die mit der Vene zusammen in einem "Gefäßbündel" verläuft. Vielleicht sind hierbei "vaso-vasale Reflexe" im Spiel, also Reflexe, die ihren afferenten Anteil in der Venenwand und ihren efferenten in der entsprechenden Arterienwand haben. RICKER (1921) und TANNENBERG (1925) haben Nerven, die gleichzeitig Arterien und Venen umspinnen, beschrieben. Ähnliche Reflexe werden auch verschiedentlich für die Regelung der Blutverteilung in den einzelnen Organen verantwortlich gemacht. Auch die Kaliberabnahme der ganzen Arterienstrecke nach einer Blutung aus der Vene könnte auf solche neuralen Steuerungsmechanismen zurückgeführt werden.

Dieser sehr interessante Zufallsbefund ist vorerst nicht zu klären. Weitere systematische Beobachtungen wären zu empfehlen.

Unsere Fragestellung zielt vielmehr auf die Klärung der Frage ab, wie kommt es durch die Verletzung eines Gefäßes in so kurzer Zeit zur festen Aggregation von Thrombocyten, so daß ein haltbarer und gut am Verletzungsrand verankerter Pfropf entsteht, der den hohen Druck- und Scherbelastungen des aufrallenden Blutstromes gewachsen ist? Ist dabei etwa ein fermentativer Mechanismus im Spiel, ähnlich wie bei der Blutgerinnung? In diesem Falle könnte der Prozeß durch Fermentgifte einflußbar sein.

3. Verletzungsthromben unter Einwirkung von Ferment- giften

Als Gift dieser Art wurde Cyankali benutzt, das als Atmungsgift viele fermentative Vorgänge mittelbar beeinflusst. Es wurde in 0,9 %iger Kochsalzlösung auf das Mesenterium aufgeträufelt.

Es zeigte sich jedoch in 10 Versuchen keine Abartigkeit im Verschluß eines Defektes großer Venen. Die Blutungszeiten waren nicht signifikant verändert, und auch der Thrombus selbst ließ nicht auf irgendeine Beeinträchtigung schließen.

Als zweites Gift wurde Diisopropylfluorophosphat verwendet, das ebenfalls in physiologischer Kochsalzlösung auf das Mesenterium aufgeträufelt wurde. Hierdurch sollen besonders Phosphorylierungsvorgänge gehemmt werden. Es traten zwar an mehreren Stellen intravasal Thrombocytenhaufen im strömenden Blut auf, jedoch wurde der Defektverschluß einer Vene nicht beeinflusst.

Man hätte natürlich weitere pharmakologische Substanzen testen können, um deren Einfluß auf die Thrombusbildung und Haemostase zu beobachten; darauf mußte aber verzichtet werden.

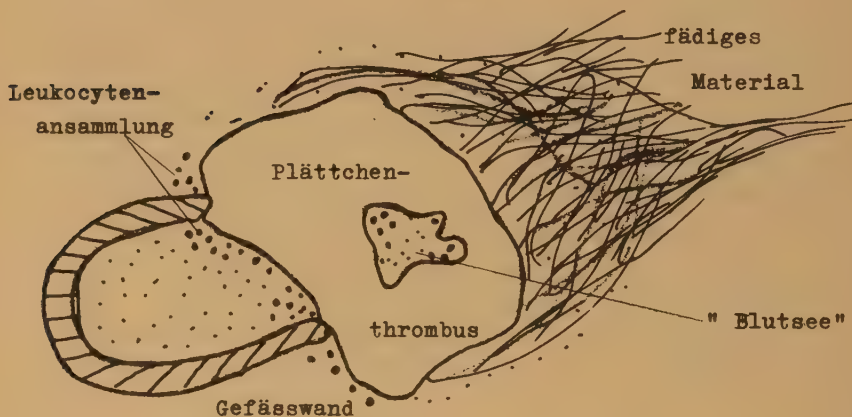
II. Morphologie des Verletzungsthrombus =====

1. Histologische Untersuchung

Schon bei der Lebendbeobachtung hatte sich gezeigt, daß der Verschlußthrombus aus zwei Teilen besteht, aus einem kompakten weißlich-grauen defektnahen und einem fädigen defektfernen Teil. Für Aussagen über die Feinstruktur wurden die Thromben histologisch nach verschiedenen Techniken und Färbungen untersucht.

a) Serienschnitte nach Paraffineinbettung

Das ausgespannte Mesenterium wurde in situ mit 10 %iger Formalinlösung beträufelt und nach ca. 30 Minuten auf einer 6 x 6 cm großen Korkplatte befestigt und für 24 Stunden hängend in Formalin fixiert. Wie in der Histologie üblich, wurde das ganze Mesenterium fortlaufend in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und schließlich gehärtet, unter dem Mikroskop so zugeschnitten, daß das Gefäß mit dem Thrombus in einem etwa quadratischen Häutchen von ca. 5 mm Kantenlänge enthalten war. Diese Stücke wurden in Paraffin senkrecht eingebettet und in Serien geschnitten. Sie wurden entweder mit Hämalaun-Eosin (nach MAYER) oder nach MASSON gefärbt. Es ergaben sich Bilder nach folgender Skizze:



2. Skizze: Verletzungsthrombus (nach einem Paraffinschnitt)

Im H.E.-Schnitt kommt ein Gefäßquerschnitt mit anhaftendem scharf begrenztem homogenem rosa-rötlichem Plättchenpfropf zur Darstellung mit massenhaft Erythrocyten in der Umgebung. Fibrin läßt sich nicht erkennen. Bei

450-facher Vergrößerung erscheint der Plättchenpfropf gekörnelt, aber einzelne Zellen lassen sich nicht abgrenzen; häufiger sieht man in der Plättchenmasse "Blutseen" (vgl. APITZ, 1941), d. h. Ansammlungen von Erythrocyten. Diese sind wahrscheinlich durch Einbruch des dauernd anprallenden Blutes in den Plättchenthrombus entstanden. Am Rand dieser "Blutseen" fallen besonders viel Leukocyten auf, wie sich auch am Rande des thrombotischen Thrombus Ansammlungen von Leukocyten nachweisen lassen. In einigen Präparaten ist am Rand die Muskelschicht des Gefäßes deutlich vom Endothel abgehoben, dazwischen liegen Erythrocyten.

Die Masson-Färbung zeigt wiederum den Plättchenthrombus scharf abgegrenzt und von einem dünnen blauen Saum umgeben. In den Erythrocytenhaufen außerhalb der Plättchenaggregate liegt auch etwas bläulich fädiges Material (bei 450-facher Vergrößerung), wobei es sich um Fibrin handeln könnte. Der Plättchenthrombus ist mehr homogen und blau-violett gefärbt.

b) Häutchenpräparation

Um den Zusammenhang der gesamten Gefäßarchitektur zu erhalten, wurden ferner Häutchenpräparate hergestellt (FASSKE, 1964). Das äußerst zarte und durchsichtige Mesenterium der Maus ist für diese sehr instruktive Methode besonders geeignet.

Darstellung der Methode

Das Mesenterium mit dem Darm wurde nach Tötung der Tiere und 3 - 5 Minuten nach Ablauf der supravitalen Erscheinungen auf einem Korken von 5 - 10 cm Ø vorsichtig aufgespannt und über 24 Stunden mit 10 % Formalin fixiert. Dann wurde der Darm vorsichtig mit einer spitzen Rasierklinge hart am Mesenterialansatz abgeschnitten, das verbleibende hauchdünne Häutchen in 10 %iger Formalinlösung schwimmend aufgefangen und behutsam mit Nadeln gestreckt und auf einem sauberen mit warmer dickflüssiger Eiweißgelatine ganz dünn bestrichenen Objektträger möglichst glatt aufgezogen und luftgetrocknet. Es haftet jetzt fest auf dem Objektträger und kann 24 Stunden gewässert werden. Färbung mit Hämalaun-Eosin, nach Masson sowie nach Weigert zur Fibrindarstellung. Alle Farblösungen müssen

länger als bei Schnitten einwirken, da das Präparat wesentlich dicker ist. Das fertige Präparat ist gewöhnlich 3 x 2 cm groß (s. Abb. 1).

Die gefärbten Häutchenpräparate vervollständigen fast optimal das gewonnene Bild.

Es zeigt sich besonders bei der Masson-Färbung sehr deutlich eine Zweiteilung des Thrombus mit einem gefäßnahen feinkörnigen und einem gefäßfernen dick-fädigen Anteil, in dem gut darstellbare Erythrocyten eingeschlossen sind. Der fädige Anteil ist um so kompakter, je älter der Thrombus ist. In einem noch vor Abschluß der Hämostase fixierten Präparat findet sich nur ein großes sehr zartes feinfädiges teils dicht körneliges Areal außerhalb des defektnahen Pfropfes ohne scharfe Abgrenzung. Erythrocyten sind in der Umgebung reichlich vorhanden.

Auch die durch Salzkristalle erzeugten Thromben (s.S.10) zeigen einen ähnlichen Aufbau; der Wand haftet ein fein granuläres Material an, gegen das Lumen erscheinen feinfädige Massen, bei denen es sich um Fibrin handelt.

Die Fibrindarstellung nach Weigert gelingt im Häutchenpräparat nicht ideal, die Präparate sind wenig haltbar. Nur während des Färbens sind die Strukturen einigermaßen zu erkennen; die Differenzierung mit Anilin-Xylol (1:1) ergibt bei so unterschiedlich dicken Präparaten nur wenig eindrucksvolle Bilder. Es lassen sich aber bei fortschreitendem Differenzieren tatsächlich violette Fibrinfasern im fädigen Anteil des Thrombus und auch unmittelbar an der Begrenzung des körneligen Plättchenthrombus erkennen. Innerhalb dieses Plättchenthrombus sind keine Fibrinfasern zu sehen. Ob solche aber wirklich nicht vorliegen, läßt sich nach der Histologie allein nur schwer entscheiden.

2. Elektronenmikroskopische Untersuchung

Zur weiteren Analyse der thrombocyitären und der fädigen Anteile im frühen Thrombus wurde die elektronenmikroskopische Untersuchung herangezogen.

Nach Ausbildung eines gut abgrenzbaren Thrombus an verletzten größeren Venen (s. S. 18) wurden die Tiere nach 5, 15, 30 und 45 Minuten getötet, das Mesenterium jeweils für eine Stunde mit 1 %iger gepufferter OsO_4 -Lösung (pH 7,42) PALADE (1952) in situ fixiert. Dann wurde der Gefäßanteil mit dem anhaftenden Thrombus (ca. 1 mm $\varnothing$) mit einem feinen Messerchen herausgeschnitten, für 20 Minuten in Pufferlösung gelassen und anschließend in Alkohol entwässert; Einbettung wie in der Elektronenmikroskopie üblich in vorpolymerisiertem Plexiglas (90:10 Butyl-Methyl-Methacrylsäure). Nachkontrastierung mit Uranyl-Acetat und Pb-Hydroxyd. Mikroskopie und Photographie mit einem Siemens-Elektronenmikroskop Elmiskop I bei Strahlenspannung von 80 kV. Vergrößerung 3 000 - 20 000fach.

b) Strukturen des Thrombus

Der bei der Vitalbeobachtung festgestellte graue gefäßnahe kompakte Anteil besteht vorwiegend aus Thrombocyten und enthält außerdem vereinzelt Erythrocyten. Der periphere Anteil besteht dagegen aus fädigem Material mit zahlreichen eingeschlossenen Erythrocyten und nur wenigen Thrombocyten und Leukocyten.

Das fädige Material soll gegliedert werden in:

a) Filamente:

Fädiges Material mit einer Dicke von 40 - 80 Å und unterschiedlicher Länge.

b) Fibrillen:

Vorwiegend linear begrenztes fädiges Material mit einer Dicke bis zur lichtmikroskopischen Auflösbarkeit (Größenordnung 200 - 2 000 Å).

c) Fasern:

Fädiges Material mit Verzweigung und Vernetzung. Dicke über 2 000 Å, also deutlich lichtmikroskopisch sichtbar.

Strukturen des kompakten (gefäßnahen) Anteils:

Die einzelnen Thrombocyten haben unterschiedliche Form und Größe, sind von einer Zellmembran begrenzt, haben aber keinen Zellkern. Ihre Innenstruktur besteht aus 2 nicht immer scharf voneinander abgrenzbaren Teilen. Im Zentrum der Zelle liegen verschiedene Zellorganellen

dicht zusammen, während die Peripherie aus wolkigⁿmäßig elektronendichtem, ziemlich gleichmäßig angeordnetem Material besteht (Abb. 3 und 4). Der zentrale Teil wird als Granulomer und der periphere als Hyalomer bezeichnet. Das Hyalomer entspricht dem Cytoplasma. Im Granulomer sind zu unterscheiden:

- a) Mitochondrien mit einer Größe von 1000-2000 Å,
- b) Alpha Granula mit gleichmäßig amorpher Matrix und einer Größe von 1000-2500 Å.
- c) Vesikel mit einer Größe zwischen 2000-6000 Å.

Die Form der Granula ist meist rund bis oval. Sie sind gegeneinander und gegen das umgebende Protoplasma scharf abgegrenzt. Der Gehalt der einzelnen Thrombocyten an Zellorganellen ist sehr unterschiedlich.

Im zentralen Teil des Thrombus liegen die Thrombocyten mosaikartig gepackt ohne größere Zwischenräume (Abb. 4). Sie haben meist polyedrische Form, zeigen oft jedoch auch längere pseudopodienartige cytoplasmatische Ausläufer. Der Zwischenraum zwischen den Zellen ist durchschnittlich 400 Å breit. Dieser Spalt ist teilweise mit feinkörnigem mäßig elektronendichtem Material angefüllt. Fädige Anteile kommen jedoch nirgends vor. Die im Thrombus eingeschlossenen Erythrocyten sind ebenfalls von Thrombocyten eng umgeben und öfter verformt (Abb. 4). Die unmittelbar an Erythrocyten angrenzenden Thrombocyten zeigen an mehreren Stellen größere Defekte der Zellmembran, ihr Cytoplasma erscheint stellenweise nicht so dicht und regelmäßig angeordnet.

In der Peripherie dieses Thrombusteiles unterscheiden sich die Thrombocyten deutlich von denen im Zentrum (Abb. 5). Die äußersten 2 - 4 Zellreihen in der Peripherie des Plättchenthrombus (genannt Schicht I) zeigen:

- a) eine Lockerung des vorher mosaikartigen dichten Zellgefüges,
- b) eine deutliche Größenzunahme der Thrombocyten mit Zellmembrandefekten,
- c) eine deutliche Verringerung der Zahl der Zellorganellen,
- d) ein verändertes Aussehen der Zellorganellen,
- e) eine verminderte Dichte des Hyalomer,
- f) ein Auftreten von Fasern und Fibrillen zwischen den Zellen häufig mit periodischer Querstreifung.

In zentripetaler Richtung von Schicht I liegen weitere 1 - 3 Zellreihen (genannt Schicht II) mit weniger veränderten Thrombocyten. Hier ist das Cytoplasma verdichtet und enthält mehrere große randständig gelegene Vakuolen. Die Organellen im Granulomer erscheinen etwas vermindert, die einzelnen Granula sind teils vergrößert, teils verkleinert und auch verschieden elektronendicht. Einige Granula haben gezackte Bänder und sehen wie "angenagt" aus. In diesem Anteil lassen sich fädige Strukturen nicht nachweisen.

Strukturen des fädigen Anteils des Thrombus

Der fädige periphere Anteil des Thrombus fern vom verletzten Gefäß schließt sich der äußersten Thrombocyten-schicht direkt an. Die fädigen Strukturen haben innigen Kontakt mit den veränderten Thrombocyten der obengenannten I. Schicht. Die hier gehäuft vorkommenden Erythrocyten sind vom faserigen Material nur umgeben, ohne mit diesem Beziehung aufzuweisen. Die faserigen Elemente sind unterschiedlich dick und weisen eine periodische Querstreifung im Abstand von 135 - 172 Å auf.

(Aus 180 Messungen errechneter Mittelwert:

$$\frac{1}{180} \cdot \sum_{i=1}^{i=180} d_i = 156 \text{ Å} \pm 12 \%$$

Das fädige Material besteht je nach Alter des Thrombus vorwiegend aus Fasern oder aus Fibrillen und Filamenten (vgl. Abb. 6 u. 7). Einige Fibrillen und Fasern lassen trotz ihrer periodischen Querstreifung noch deutlich eine Längsfilamentierung erkennen.

Im fädigen Anteil kommen vereinzelt auch isolierte teils abgerundete teils gelappte Thrombocyten vor mit engem Kontakt zum faserigen Material (Abb. 6). Die Fibrillen und Fasern berühren dabei tangential in unterschiedlicher Länge die Zellmembran. Die Thrombocyten sind häufig vakuolig verändert und erscheinen wabig. Die Zellmembran ist nicht immer nachweisbar. Nur sehr selten werden auch nahezu unveränderte Thrombocyten im fädigen Anteil gefunden, die von radiär angeordnetem Fasermaterial umgeben sind (Abb. 6).

Die Struktur der Wand verletzter Gefäße

Die Gefäßwand besteht aus einer Muskelschicht mit Bindegewebsanteilen, die durch eine dichte Basalmembran von den Endothelzellen getrennt ist. Die Endothelzellen sind flach und überlappen sich. Im Bereich von Endothel-läsionen liegen Thrombocyten dicht gepackt wie ein Mosaik und eng der Basalmembran an (Abb. 3). Sie zeigen keine Auffälligkeiten außer einer variablen Gestalt. Fädiges Material ist nirgends nachzuweisen. Die unversehrte Endothelschicht ist nirgends von Thrombocyten bedeckt.

c) Vergleichende Untersuchung von verschieden alten Thromben

Es interessierte uns die Frage, ob sich ein frischer in ca. 45 Sekunden ausgebildeter Thrombus von einem älteren unterscheidet. Verschiedene Thromben wurden deshalb 5, 15, 30 und 45 Minuten nach der Verletzung fixiert und elektronenmikroskopisch untersucht.

Dabei zeigt sich, daß die Struktur des Verletzungsthom-

bus in dem gefäßnahen kompakten Anteil zu den verschiedenen Zeiten im wesentlichen gleichbleibt, daß jedoch in der Peripherie des Thrombus deutliche Unterschiede auftreten. Diese Unterschiede betreffen insbesondere die Struktur des faserigen Materials.

Thrombus nach 5 Minuten

Fädiges Material über $2\,000\text{ Å}$ Dicke, also Fasern, kommen im allgemeinen nicht vor. Einige Fibrillen sind trotz ihrer angedeuteten Querstreifung noch längsfilamentär, meistens nur kurz und an den Enden wie ausgefranst (Abb. 8 u.9). Sie sehen dadurch weniger kompakt aus und erscheinen strähnig. Die Fibrillen sind in ihrem übersehbaren Verlauf unterschiedlich dick und haben eine Maximaldicke von $1\,000\text{ Å}$. Manche Fibrillen laufen mit Nachbarfibrillen parallel oder konvergieren und verschmelzen zu einem dickeren Bündel von maximal $1\,500\text{ Å}$. Dabei liegen sie so nebeneinander, daß die dunklen Streifen der einen Fibrille, auch D-Streifen genannt, mit den D-Streifen der anderen Fibrille in Kontakt treten, so daß die Querstreifung in dem neugebildeten dickeren Fibrillenbündel als eine gerade Linie von einer Fibrille in die andere übergeht.

Neben den eindeutig quergestreiften Fibrillen gibt es auch einige mit nur angedeuteter Querstreifung. Sie sind locker gefügt, von unterschiedlicher Dicke, deutlich längsfilamentär, meist kurz und sehen flockig aus. Sie bestehen aus verschiedenen langen etwa $40 - 50\text{ Å}$ dicken Filamenten, die teils dicht, teils weniger dicht meist parallel gelagert sind, stellenweise aber auch ungeordnet nebeneinander liegen (vgl. Abb. 8,9 u. 10).

Thrombus nach 15 Minuten

Hier weisen fast alle Fibrillen und Fasern periodische Querstreifung auf (Abb. 7). Die Fibrillen haben im ganzen Verlauf meist eine annähernd gleiche Dicke von maximal $1\,100\text{ Å}$. Es kommen allerdings auch wesentlich feine-

re quergestreifte Fibrillen vor mit ebenfalls gleichmäßiger Dicke in ihrem ganzen Verlauf (ab $200 \text{ \AA}$). Fibrillenverschmelzung durch seitliche Aneinanderlagerung ist häufig zu beobachten. Dadurch sind Fasern entstanden mit einer maximalen Dicke von $2\ 300 \text{ \AA}$. Nur ganz vereinzelt kommen Fibrillen ohne deutliche Querstreifung vor.

Thrombus nach 30 Minuten

Hier fällt gegenüber den Bildern der früheren Serien eine erhebliche Zunahme des fädigen Materials überhaupt auf. Fibrillen und Fasern sind stark miteinander vernetzt. Die Fibrillen sind gleichmäßig linear begrenzt, und ihre maximale Dicke hat kaum zugenommen. Die Fasern haben deutlich an Zahl zugenommen und sind maximal $2\ 600 \text{ \AA}$ dick. An den Verknüpfungspunkten der Fibrillen und Fasern fällt eine undeutliche und teilweise sogar fehlende Querstreifung auf. Dort erscheinen wieder filamentäre Strukturen. Die Filamente sind wiederum $40 - 50 \text{ \AA}$ dick, verschieden lang, teils mehr parallel geordnet teils ungeordnet (Abb. 11).

Thrombus nach 45 Minuten

In dieser Zeit hat die Faserdicke weiter zugenommen. Ihr Maximum erreicht $3\ 800 \text{ \AA}$. Die Fibrillen sind genau wie nach 15 und 30 Minuten maximal $1\ 200 \text{ \AA}$ dick, weisen größtenteils periodische Querstreifung auf, sind aber in ihrer übersehbaren Länge nicht gleichmäßig linear begrenzt und sehen manchmal "wie angenagt" aus. An einigen Stellen erscheinen sie filamentär aufgefasert (Abb. 12).

Es zeigt sich also, daß sich der Thrombus in seiner Feinstruktur ändert, obwohl er lichtmikroskopisch völlig gleich zu bleiben scheint. Das Zentrum des Thrombus, das aus agglutinierten Thrombocyten besteht, also der eigentliche "Plättchen-clot", bleibt während 45 Minuten nahezu unverändert, es kommt nur in seiner peripheren Zone zu einer Zelldegeneration. In unmittelbarer Nähe des Plättchenaggregates entsteht aber mit der Zeit zunehmend

eine Faserbildung aus filamentären und fibrillären Elementen. Die Fibrillen zeigen schon nach 5 Minuten teilweise periodische Querstreifung, die im weiteren Verlauf bei nahezu allen Fasern und Fibrillen deutlich hervortritt. Außerdem kommt es zunehmend zur Fibrillen- und Faservernetzung. Die Dickenzunahme der Fibrillen scheint begrenzt zu sein.

Bei diesen Befunden wäre es wichtig, die frühesten Stufen der Faserbildung vor den ersten 5 Minuten zu verfolgen. Dazu besteht aber aus versuchstechnischen Gründen keine Möglichkeit. Deshalb wurde die interessierende Frage an einem Modell untersucht.

III. Elektronenmikroskopische Untersuchung der Gerinnung =====

von menschlichem Plasma in vitro
=====

1. Methodik

Mit einer kurzen dicken hochglanzpolierten Strauss'schen Kanüle wurde aus der Cubitalvene eines gerinnungsgesunden Menschen Blut gewonnen und in siliconisierten Gefäßen ohne Zusatz aufgefangen. Durch Zentrifugierung mit 120 g bei 5 Grad C RODMANN (1962) wurde thrombocytenreiches Plasma gewonnen.

Die Gerinnung trat in der Regel nach 90 Sekunden ein. In Mikroröhrchen wurden jeweils 3 Tropfen Plasma zur spontanen Gerinnung gebracht und nach 60, 90, 180, 600 und 1500 Sekunden mit gepufferter 1 %iger OsO_4 -Lösung (pH 7,42) fixiert.

Da in einem Versuch nie eine periodische Querstreifung im fädigen Material beobachtet werden konnte, was möglicherweise auf einen Mangel an Thrombokinasen in vitro zu beziehen sein könnte, wurde in einem zweiten Versuch Thromboplastin (Roche) im Verhältnis 1:1 zugesetzt. Spontane Gerinnungszeit 90 Sekunden. Fixierung der Gerinnung nach 90, 600 und 1500 Sekunden.

Alle fixierten Gerinnungseln wurden wie vorher beschrieben, für die Elektronenmikroskopie aufgearbeitet (vgl. S. 28).

2. Plasmagerinnung in Abhängigkeit von der Zeit

Schon nach 60 Sekunden, also vor der makroskopisch erkennbaren Gerinnung, treten Fibrillen mit einer Maximal-

dicke von 2 000 Å auf (Abb. 13). Sie sind in ganzer Länge annähernd gleich dick und zeigen keine Tendenz zur Vernetzung mit anderen Fibrillen. Ihre Struktur ist feinst-filamentär mit einer Dicke unter 40 Å. Die Filamente lassen eine unterschiedliche Ausrichtung erkennen und zeigen nirgends typische periodische Querstreifung.

Nach 90 Sekunden haben die Fibrillen eine Stärke von maximal 2 500 Å und können größenordnungsmäßig schon als Fasern angesprochen werden. Die durch Vernetzung entstandenen Fasern haben eine Dicke bis zu 3 000 Å. Ihre Struktur ist vorwiegend längsfilamentär; dadurch zeigen sie eine ausgeprägte Längsstreifung. Die Filamentdicke beträgt wiederum 40 - 50 Å.

Nach 180 Sekunden ist die Vernetzung am stärksten ausgebildet, die Fasern haben weiter an Dicke bis zu 5 000 Å zugenommen (Abb. 14).

Nach 600 und 1 500 Sekunden nimmt die Vernetzungstendenz wieder ab. Die Fasern sind nach 180 - 600 und 1 500 Sekunden vorwiegend längsfilamentär mit einer Filamentdicke von 40 - 50 Å (Abb. 15).

In keiner Faser oder Fibrille tritt eine periodische Querstreifung auf.

3. Plasmagerinnung nach Zugabe von Thrombokinase

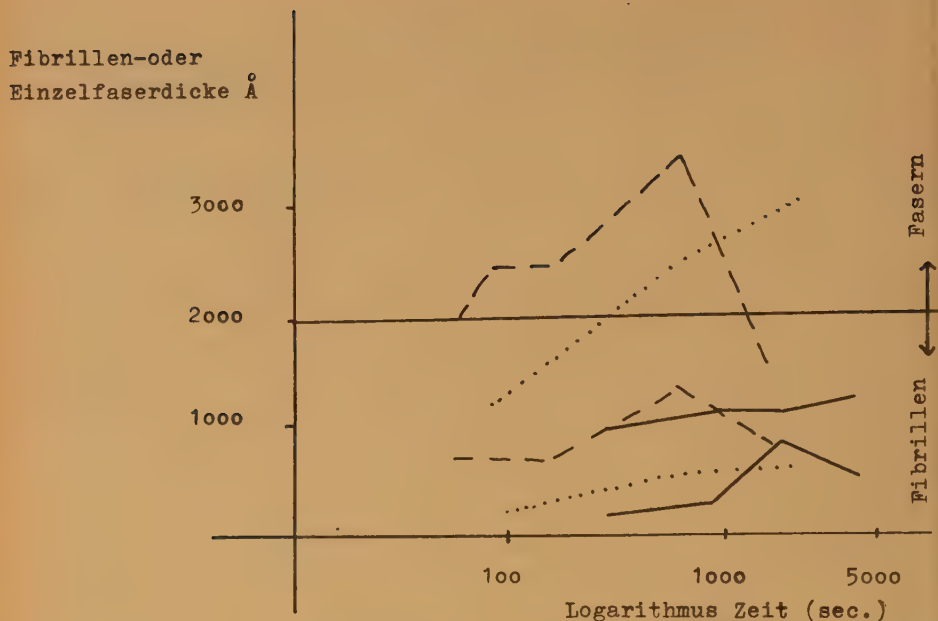
Auch in diesen Versuchen zeigen Fibrillen und Fasern nie eine periodische Querstreifung. Die Befunde sind denen des Versuchs ohne Thrombokinase mit geringen und unwesentlichen Abweichungen weitgehend ähnlich.

In der folgenden Tabelle sind die Meßergebnisse zusammengestellt.

	Zeit (sec)	Fibrillen bzw. FASER- Dicke (Å) Mittelw.	Vernetzung der Fibr./Fasern		Struktur der Fibrillen und Fasern	
			Stärke	maxim. Dicke	filamentär Dicke (Å)	Querstreifg. Periode (Å)
Gerinnung in vitro (Mensch) <u>ohne Thrombokinas</u>	60	1350	-	--	40	--
	90	1600	+++	3000	40-50	--
	180	1800	++++	5000	40-50	--
	600	2400	+	--	40-50	--
	1500	1250	+	--	40-50	--
	90	800	++	1500	40-50	--
	600	1500	+	--	40-50	--
	1500	1800	+	--	40-50	--
	300	600	+	1500	wenig 40-50	viel 138-170
	900	700	++++	2300	--	157-170
Gerinnung in vivo (Maus)	1800	950	++	2650	An Faserkno- ten 40-50	154-164
	2700	950	++	3800	An Faserkno- ten 40-50	135-170

Die graphische Darstellung (Skizze 3) zeigt die Minima und Maxima der Fibrillendicke bzw. die Dicke von unverzweigten Einzelfasern in Abhängigkeit von der Zeit.

Danach traten in vitro mit und ohne Zugabe von Thromboplastin sehr bald dicke Fibrillen auf, die nach der Größenordnung den Fasern zugerechnet werden müssen. In vivo dagegen scheint die Fibrillendicke einem Grenzwert zuzustreben.



Gerinnung in vitro ohne Thrombokinas — — —
 Gerinnung in vitro mit Thrombokinas
 Gerinnung in vivo —————

Skizze 3

IV. Zusammenfassung und Diskussion der Befunde bei ===== extravasaler Gerinnung =====

Nach der Darstellung der Strukturen bei verschiedenen Gerinnungsprozessen soll zunächst versucht werden, den Vorgang der Thrombose zu erklären.

Durch die Verletzung des Gefäßes mit der Nadel werden in der Wunde benetzbare Strukturen freigelegt und Gewebsthrombokinas freigesetzt. Nach BOUNAMEAUX (1962) besitzen Thrombocyten zu freien Bindegewebsfasern eine hohe Affinität und haften sehr leicht an diesen. Auch

in unseren Versuchen ließ sich zeigen, daß Thrombocyten an der freiliegenden Basalmembran eines Gefäßes fest haften (Abb. 3), daß dagegen an Endothelzellen keine Haftung erfolgt. Die unmittelbar nach der Wundsetzung zur Wirkung kommende Thrombokinese ermöglicht offenbar an den abgesetzten Thrombocyten sehr schnell Strukturveränderungen. DE ROBERTIS (1953), CASTALDI u. Mitarb. (1962), PARMEGGIANI (1961) und andere bezeichnen diesen Strukturwandel der Thrombocyten als visköse Metamorphose, die lichtoptisch durch Aufquellung und Pseudopodienbildung ausgezeichnet sein soll. Elektronenmikroskopisch zeigen die Thrombocyten bei visköser Metamorphose - offenbar als Folge steigender Konzentration und Einwirkungsdauer von Thrombokinese - zunächst Dichteunterschiede im Hyaloplasma (PARMEGGIANI, 1961), dann Vakuolenbildung und Granulaveränderungen bis zur Auflösung der Zelle mit Verlust der Zellmembran. DE ROBERTIS (1953) weist darauf hin, daß ganz geringe Mengen von Thrombokinese oder Thrombin schon ausreichen, um die visköse Metamorphose herbeizuführen. PARMEGGIANI (1961) konnte schon 10 Sekunden nach Zugabe von Thrombin elektronenoptische Veränderungen deutlich wahrnehmen. SETNA (1958) sah im Phasenkontrastmikroskop bei Zugabe von Thrombin zu plättchenhaltigem Plasma die extrem schnelle Ausbildung von Agglutinaten in unterschiedlicher Form.

Danach dürfte es ohne weiteres zu erklären sein, daß in unserem Versuch innerhalb von 45 - 60 Sekunden der Gefäßdefekt zunächst durch ein Plättchenaggregat verschlossen wird. Es gleichen jedoch die Thrombocyten im Zentrum des Thrombus nahezu den vitalen Thrombocyten (KÖPPEL, 1958). Anders ist nur ihre teilweise recht bizarre Form. Konzentration und Einwirkungsdauer von Thrombin haben anscheinend nur eine Formveränderung der Zellen veranlaßt. Nur wenige Zellen haben eine visköse Metamorphose erfahren.

Nach den Untersuchungen in vivo ist der Plättchenthrombus zunächst nicht sehr haltbar. Er läßt sich unmittelbar nach erfolgter Hämostase (ca. 1 Minute nach Verletzung) mit der Nadel leicht ablösen, nicht mehr jedoch nach 5 - 10 Minuten.

Dieser Befund kann durch die morphologischen Untersuchungen erklärt werden. In der Peripherie des Thrombus nehmen erst nach und nach die dem Plättchen-clot Festigkeit verleihenden Fasern an Menge und Dichte zu, d.h. die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin hat zum Zeitpunkt der Ausbildung des thrombocyitären Agglutinates noch nicht ihren Höhepunkt erreicht. Sogar 5 Minuten nach der Verletzung, wenn die Hämostase lange eingetreten ist und der Plättchen-clot genau wie später gestaltet ist, ist die Menge der Fibrillen noch relativ geringer als später. Fasern sind kaum vorhanden. In größerer Anzahl findet sich noch filamentäres Material, das locker gefügt, nicht so haltbar sein dürfte wie das kräftig vernetzte Faser-material 10 oder 30 Minuten nach der Verletzung (vgl. Abb. 8 mit Abb. 7 u. 11).

ROSKAM (1959) machte bei Patienten mit Hämophilie eine in diesem Zusammenhang sehr interessante Beobachtung. Verletzte Gefäße werden bei diesen Menschen zwar durch ein Plättchenagglutinat in normaler Zeit verschlossen, jedoch sind diese "clots" äußerst labil, es kommt zu wiederholten Nachblutungen. Der verminderte Thrombingehalt reicht zur Bildung eines Plättchenaggregates zwar aus, aber der Mangel an Fibrin infolge der humoralen Gerinnungsstörung macht das Plättchenaggregat insuffizient. Der Thrombus eines Gerinnungsgesunden ist somit zum Zeitpunkt der Hämostase etwa dem des Hämophilen vergleichbar. Erst durch die später einsetzende Faserbildung wird er beim Gerinnungsgesunden stabilisiert, während er beim Hämophilen dauernd insuffizient bleibt.

Warum kommt es erst nach erfolgter Hämostase durch Thrombocytenagglutination zur Ausbildung von Fibrinfasern?

Gewebsthrombokinasen ist offenbar sofort nach der Verletzung vorhanden und vermischt sich mit dem ausströmenden Blut. Diese Thrombokinasen bewirkt nicht nur die Gerinnung sondern (wie schon erwähnt) auch die visköse Metamorphose der Thrombocyten. BRAUNSTEINER u. Mitarb. (1950) wiesen darauf hin, daß die visköse Metamorphose bei gleicher Thrombokinasenkonzentration viel schneller als die relativ träge Gerinnung abläuft. Nach JOHNSON u. Mitarb. (1963) lassen schon 10 % der Thrombokinasenkonzentration, die zur Gerinnung nötig ist, die visköse Metamorphose schnell und vollständig ablaufen. Die Thrombocyten sind also offensichtlich viel empfindlicher gegenüber Thrombokinasen als das gelöste Fibrinogen. Deshalb kommt es anscheinend erst im Anschluß an die Hämostase zur Ausfällung von Fasern aus dem ergossenen Blut. Die Faserentstehung wird dadurch um so mehr begünstigt, als die in der Peripherie des Plättchenaggregates liegenden Zellen zerstört werden und deshalb zusätzlich Thrombocyten-thrombokinasen in großer Menge anfällt. Nach SCHULZ u. Mitarb. (1959) enthalten besonders die Alpha-Granula viel Thrombokinasen. Aus unseren morphologischen Untersuchungen geht eindeutig hervor, daß die Alpha-Granula der peripher liegenden Thrombocyten ebenso wie die übrigen Zellbestandteile alle Zeichen der Auflösung erkennen lassen (Abb. 5).

Drei Fragen drängen sich bei diesem Sachverhalt auf:

1. Wodurch werden die peripheren Thrombocyten-schichten des Thrombocytenagglutinates aufgelöst?
2. Welche Beziehungen bestehen zwischen Thrombocyten und Fibrin?
3. Wie vollzieht sich die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin?

Die erste Frage läßt sich relativ leicht beantworten. Die Gewebsthrombokinasen hat die Aggregation der Thrombocyten bewirkt, aber sie ist dadurch nicht aufgebraucht worden. Da sie annähernd gleichmäßig in dem den Plättchen-clot umgebenden Blut angereichert wird, kann sie in das thrombocytaire Agglutinat von außen diffundieren

und den Zerfall der außen liegenden Plättchen bewirken. Wenn Thrombokinase länger auf Thrombocyten einwirkt, kommt es zur Auflösung der Zellen (LÜSCHER, 1956; HUTTER, 1959; BETTEX u. Mitarb., 1961). Außerdem diffundiert weiterhin Gewebssaft in das Agglutinat und könnte durch Veränderung des Ionenmilieus und des pH ebenfalls zum Zerfall der Zellen beitragen.

Die zweite Frage betrifft die Beziehung zwischen Thrombocyten und Fibrin in der Peripherie des Thrombus. Es ist auffallend, daß anscheinend nur Thrombocyten die Fähigkeit haben, an Fibrin zu haften, daß dagegen Erythrocyten und Leukocyten keine Beziehungen zum Fibrin aufweisen. DE ROBERTIS (1955) sah nur von intakten Thrombocyten Fibrin ausgehen, wobei die Zelle als Konzentrationspunkt für die Fasern fungiert, und meint ebenso wie BLOOM (1955), daß die Fasern mit den Alpha-Granula der Thrombocyten in Beziehung stehen. Dies konnten wir nicht beobachten. Die Fasern haben nur Kontakt mit der Membran oder ihren Resten. Sie lassen sich in die Zelle jedoch nie verfolgen (Abb. 6). Offenbar stellt die Zellmembran einen Kristallisierungspunkt für die sich bildenden Fasern dar, denn auch KÖPPEL (1962) sah feinste als Fibrinogen gedeutete "Fädchen" auf Thrombocytenmembranen. Dadurch könnte die Fibrinfaserentstehung in gewisser Weise mit der Kollagenfaserentwicklung verglichen werden, in der ebenfalls die Zellmembran als "Marginationszone" der feinsten Fibrillen fungiert (vgl. SCHWARZ u. Mitarb., 1962).

Warum Fibrin nur mit Thrombocytenmembranen, aber nie mit anderen Zellen Kontakt aufweist, ist morphologisch nicht zu klären.

Nach DE ROBERTIS (1955) werden die Fibrinfasern von intakten Thrombocyten ausgerichtet. Auch nach Abb. 6 gewinnt man den Eindruck, als ob der Thrombocyt die um-
1 Fasern orientiert hätte. Nach WOLF (1961) er-

fahren nicht alle Thrombocyten bei Thrombinzugabe die visköse Metamorphose und agglutinieren. Wenige einzeln gelagerte Thrombocyten liegen unversehrt im fädigen Anteil und sind für die Faservernetzung möglicherweise von Bedeutung.

Die letzte Frage gilt der Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin. Wie sind Fibrin und Fibrinogen elektronenmikroskopisch beschaffen? WOLPERS u. Mitarb. (1939 u. 1947), HALL (1949 u. 1959) beschreiben Fibrin als eine Faser mit typischer periodischer Querstreifung im Abstand von 180 - 230 Å. Fibrinogen dagegen soll ein feines "Fädchen" aus 3 - 4 kettenförmig aneinandergereihten "Knötchen" mit dem Durchmesser von 50 - 60 Å sein. Die Länge des "Fädchens" beträgt 485 Å (HALL). Viele Autoren haben seitdem Fibrin untersucht und bei der Messung der Fibrinperiode ähnliche Werte gefunden. Für Fibrinogen hat KÖPPEL (1962) morphologisch ähnliche Befunde wie HALL erhoben, seine Meßergebnisse weichen jedoch erheblich von denen HALL's und WOLPERS' ab (Fibrinogenlänge 860 - 1100 Å, Breite 220 Å). Fibrin wurde auch bei verschiedenen Tierspezies untersucht (HALL, 1949-59; HAUST, 1965; KUHNKE 1958 u.a. beim Menschen; HALL, 1949 beim Rind; WIENER 1962 bei der Ratte), wobei eindeutige Unterschiede in der Querstreifungsperiode nicht zu beobachten waren. Auch unterschiedliche Präparationstechniken hatten keinen Einfluß auf die Meßergebnisse der Fibrinperiode [Ultradünnschnitte (WIENER, 1962; HAUST, 1965) und Bedampfungspräparate (HALL, 1949-59; KUHNKE, 1957-58; KÖPPEL, 1962 u.a.), Schnitte mit nachfolgender Ultraschallbehandlung (WOLPERS, 1947)]. Dazu steht die in eigenen Versuchen gemessene Fibrinquerstreifungsperiode von durchschnittlich 156 Å im Gegensatz. Es ist kaum anzunehmen, daß ein Artefakt vorliegt, da die Messungen an Bildern verschiedener Serien durchgeführt wurden, die von verschiedenen Tieren stammten und an verschiedenen Tagen

bearbeitet worden waren. Die Präparationstechnik unterscheidet sich von der anderer Untersucher nicht wesentlich. Es wäre allenfalls denkbar, daß Mäusefibrin eine andere Periode hat; jedoch ist dies ziemlich unwahrscheinlich. An Mäusen wurden allerdings bisher keine Gerinnungsuntersuchungen durchgeführt. Eine eindeutige Erklärung für die Diskrepanz der Meßergebnisse kann nicht gegeben werden.

Die Umwandlung des Fibrinogen in Fibrin wurde von LAKI (1953, 1960, 1962) und KÖPPEL (1962) eingehend untersucht. Danach vollzieht sich der als eine Polymerisation aufgefaßte Vorgang in drei Stufen. Zunächst lagern sich die "Fibrinogenfäden" End zu End aneinander und bilden "Fibrinogenketten". Chemisch soll es zu einer Säureamidbildung unter Abspaltung eines Peptids A kommen. Im zweiten Schritt lagern sich diese "Fibrinogenketten" Seit zu Seit aneinander unter Ausbildung einer weiteren Säureamidbindung und Abspaltung von Peptid B sowie unter Bildung von mehreren elektrostatischen Wasserstoff-Brücken. Es resultieren schließlich Fibrinfasern mit periodischer Querstreifung. Als dritter Polymerisationsschritt wird die Seit zu Seit-Anlagerung von Fasern untereinander betrachtet, wobei entsprechende Querstreifen sich berühren und chemisch die Anlagerung durch Ausbildung von Wasserstoff-Brücken verwirklicht wird. Dieser Vorgang wird als homologe Lateralassoziation bezeichnet.

Das Verhalten der fädigen Anteile des Thrombus zwischen 5 und 45 Minuten kann dementsprechend gedeutet werden. Etwa nach 5 Minuten treten Fibrillen mit periodischer Querstreifung ohne stärkere Neigung zur Vernetzung auf. Ganz vereinzelt schon entstandene Fibrinfasern vernetzen sich bis zu 30 Minuten zunehmend immer stärker durch homologe Lateralassoziation. Dadurch wird das Plättchenagglutinat von außen stärker verfestigt. Nach 5 Minuten gibt es noch Fibrillen mit vorwiegend filamentären Strukturen und nur eben angedeuteter periodischer Querstreifung.

Die Filamente haben eine Dicke von $40 - 50 \overset{\circ}{\text{\AA}}$ und entsprechen somit durchaus den Messungen anderer Untersucher dem Fibrinogen. Es könnten die von KÖPPEL (1962) beschriebenen intermediär auftretenden "Fibrinogenketten" vorliegen, die nachfolgend durch Seit zu Seit-Assoziation die Fibrinfibrillen und -fasern bilden. Etwas fädiges Material ist sogar noch ungeordnet filamentär strukturiert. Hierbei könnte es sich um den ersten Polymerisationsschritt nach KÖPPEL handeln. Nach 15 Minuten sind solche Strukturen nicht mehr zu erkennen. Das Fibrin ist gebildet und erfährt nur noch den dritten Polymerisationsschritt. Auffallend ist jedoch, daß bei der angenommenen homologen Lateralassoziation an den Verknüpfungsstellen der Fibrillen und Fasern die Querstreifung unsichtbar wird. Die Fibrillen scheinen auch einer begrenzten Maximaldicke zuzustreben, die etwa bei $1\,200 - 1\,500 \overset{\circ}{\text{\AA}}$ liegt. Anscheinend ist die "Ordnung" in Fibrillen und Fasern, als die die Querstreifung nach LAKI (1962) anzusehen ist, nur bis zu einer bestimmten Dicke aufrechterhalten. Da die Verknüpfung der Moleküle bei dem zweiten und dritten Polymerisationsschritt zum großen Teil durch Wasserstoffbrücken, also durch elektrostatische Anziehungskräfte aufrechterhalten wird, wäre es denkbar, daß nur eine begrenzte Anzahl von Molekülen durch diese Kräfte geordnet werden kann. Nimmt die Dicke der Faser und damit die Zahl der verknüpften Moleküle zu, so reichen offenbar die elektrostatischen Kräfte nicht mehr aus, die Einzelmoleküle liegen wieder ungeordnet. Die geordnete Struktur in der Fibrille wird wahrscheinlich auch durch solche Kräfte gestört, die bei der Verknüpfung von Fibrillen zu Fasern wirksam werden. Nach KÖPPEL werden die Fibrillen und Fasern, sobald sie in einem Winkel unter 45° zueinander in mäßigem Abstand entfernt liegen, mit großer Kraft zur homologen Lateralassoziation gezwungen.

Nach 45 Minuten zeigt das Fibrin noch weitere Besonderheiten. Die Fibrillen und Fasern sehen teilweise "ange-nagt" aus und sind nicht so gleichmäßig kompakt wie vorher (vgl. Abb. 12), sie sind teilweise filamentär aufgespalten. KUHNKE (1963) hat ähnliche Vorgänge bei der Fibrinolyse beschrieben und WIENER (1962) hat gezeigt, daß der Thrombus nach 24 Stunden kaum noch Fibrin in typischer Form enthält. Es könnten vielleicht schon nach 45 Minuten fibrinolytische Mechanismen mit der homologen Lateral-assoziation der Fasernetzbildung in Konkurrenz treten.

Die Thrombose ist demnach also ein Vorgang, der durch zwei Mechanismen bewerkstelligt wird:

1. Durch die visköse Metamorphose der Thrombocyten, die sehr schnell zu einem vorläufigen Verschluß des defekten Gefäßes führt und
2. durch die Gerinnung, die sich über längere Zeit erstreckt und den sonst insuffizienten Plättchenthrombus von außen durch Fasern stabilisiert (vgl. LÜSCHER, 1956; COPLEY, 1957 u.a.).

Untersuchungen von APITZ (1937-42), nach denen die Plättchen untereinander durch faserige Fibrinvorstufen, nämlich das Profibrin, zusammengehalten werden, sind nicht zu bestätigen. Auch KJÄRHEIM u. Mitarb. (1962) haben innerhalb des Plättchenaggregates elektronenmikroskopisch keine Fasersubstanz nachweisen können. Selbst intravaskulär entstandene Thromben in kleinen Lungengefäßen zeigen nach POLICARD (1955) nirgends Profibrin als Bindesubstanz zwischen den Thrombocyten. Nach FRENCH und POOLE (1963) und JOHNSON u. Mitarb. (1963) läßt sich dagegen sogar Fibrin zwischen den Thrombocyten nachweisen. Beide Untersucher benutzten jedoch künstlich entstandene thrombenähnliche Plättchenaggregate, die nur die innige Bindungsfähigkeit zwischen Fibrin und Thrombocyten beweisen, den Befunden natürlich entstandener Thromben jedoch nicht widersprechen, weil völlig unterschiedliche Voraussetzungen vorliegen.

Gerade die kurzzeitige und nur einmalige Blutung, die in unserem Experiment zur Thrombose an Venen der Maus geführt

hat, eignet sich besonders gut für das Studium der grundlegenden pathophysiologischen Vorgänge. Wenn es zu mehreren Nachblutungen kommt, ist es verständlich, daß Schichten von Thrombocyten mit Schichten von Fibrin und Erythrocyten abwechseln, wie es nach histologischen Untersuchungen von Thromben durchaus bekannt ist.

Die als Ergänzung zur Analyse der Strukturverhältnisse des natürlichen Thrombus einbezogenen Versuche der Gerinnung von menschlichem Plasma in vitro ergeben, daß schon vor der makroskopisch sichtbaren Faserbildung elektronenmikroskopisch fädiges Material von beträchtlicher Dicke nachzuweisen ist. Diese Fibrillen zeigen keine Vernetzung und liegen mit einer Dicke von durchschnittlich $1\ 000 - 1\ 500\ \text{\AA}$ unter dem Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops. Zunächst bestehen die Fibrillen aus feinen und kurzen wirr durcheinanderliegenden Filamenten. Ähnliches wurde auch beim Verletzungsthrombus von 5 Minuten noch gelegentlich beobachtet. Schon nach kurzer Zeit sind diese Filamente in der Fibrillenlängsachse ausgerichtet. Es ist schwer zu sagen, ob die ungeordneten kurzen Filamente dem ersten Polymerisationsschritt nach KÖPPEL oder einer Anhäufung von Fibrinogen entsprechen. Wichtig erscheint jedoch, daß fädige Strukturen sich äußerst schnell bilden und danach eine Dickenzunahme und innere Umstrukturierung erfahren, was offensichtlich längere Zeit in Anspruch nimmt. Die zunächst im Plasma gleichmäßig verteilten Fibrinogenmoleküle müssen offenbar erst in einer bestimmten Form aneinander gelagert werden, damit sich die End zu End- und Seit zu Seit-Assoziation vollziehen kann. Dieses Phänomen zu Beginn der Gerinnung führt anscheinend gleich zu fädigen Strukturen, niemals zu einer Haufenbildung.

Es ist besonders bemerkenswert, daß die in vitro entstehenden Fibrillen und Fasern niemals eine periodische Querstreifung aufweisen. Im fädigen Anteil des Thrombus zeigt sich dagegen schon nach 5 Minuten größtenteils eine ausgeprägte Querstreifung. In vitro tritt jedoch

selbst nach 25 Minuten (also nach einer fünfmal so langen Zeit) niemals Querstreifung auf.

Ähnliche Beobachtungen machte schon WOLPERS (1947) an Zitratblut in vitro. Auch KUHNKE (1958) hat eine Querstreifung in Schnittpräparaten von in vitro geronnenem nativen Plasma vermißt. Es gelang ihm jedoch eine deutliche Querstreifung in Fasern zu erhalten, wenn er Plasma in dünner Schicht direkt auf Formvar, einer in der Elektronenmikroskopie häufig als "Objektträger" verwendeten Folie, gerinnen ließ und die feinen Fäserchen durch Bedampfung kontrastierte. HASCHE und SEELIGER (1956-57) beschrieben ebenfalls atypisches Fibrin in der Umgebung von Thrombocyten in Schnittpräparaten von Zitratblutgerinnseln. Die Mehrzahl der übrigen Untersucher benutzte zur Fibrindarstellung ebenso wie KUHNKE (1958) Bedampfungspräparate und fanden dabei regelmäßig Querstreifung (BRAUNSTEINER, 1950; LAKI, 1953; KÜPPEL, 1962 u.a.).

Da ein Mangel an Thrombokinase für das Verhalten des Plasmagerinnsels im Reagenzglas in Betracht kommen konnte, wurden die Gerinnungsversuche unter Zugabe von Thromboplastin wiederholt. Aber auch dadurch ließ sich eine periodische Querstreifung nicht erreichen. Nach Versuchen von WOLPERS (1947) ist auszuschließen, daß ein Mangel an Ca-Ionen den eigenartigen Befund bewirkt hat. Es scheinen also für das uneinheitliche Auftreten der Querstreifung beim Fibrin verschiedene Präparationsbedingungen verantwortlich zu sein. Diese Annahme liegt angesichts der Tatsache nahe, daß bei der in vitro-Gerinnung nach mehreren Untersuchern eine Querstreifung nicht auftritt, bei der Gerinnung auf einer Folie in dünner Schicht (oder intravital) eine deutliche Querstreifung sich dagegen einstellt.

Wie schon erwähnt, wird die Querstreifung als Ausdruck der "Ordnung" der Moleküle in der Faser gewertet. Sie

soll durch elektrostatische Kräfte zwischen den Molekülen aufrechterhalten werden. Es wäre denkbar, daß auch von außen auf die Faser einwirkende Kräfte auf deren Struktur Einfluß nehmen könnten. Gerinnt das Blut in vivo, so wird offenbar durch intakte Thrombocyten oder andere Zellen das Fasernetz ausgerichtet. Kommt es zur Gerinnung einer dünnen Blut- oder Plasmaschicht auf einer Folie, so werden die Fasern offenbar durch Adhäsionskräfte ausgerichtet. Bei der Gerinnung in vitro scheint eine richtunggebende Kraft zu fehlen. Von der Kristallisation von Salzen ist bekannt, daß äußere Kräfte die Struktur der sich bildenden Körper beeinflussen können. CASASSA (1956-57) hat offenbar nicht zu Unrecht die Fibrinentstehung mit einem Mikrokristallisationsprozeß verglichen.

Um jedoch ausschließlich mechanische Gesichtspunkte für die unterschiedlichen Befunde bei der Fibrinbildung verantwortlich machen zu können, müßten außer Thrombokinase und Ca-Ionen noch andere physikalisch und chemisch in den Gerinnungsablauf eingreifende Faktoren näher geprüft werden. HAWN und PORTER (1947) haben z.B. beschrieben, daß pH-Veränderungen auch an Bedampfungspräparaten zum Verschwinden der Querstreifung des Fibrin führen können.

Abschließend sei die Frage nach dem Profibrin von APITZ noch einmal berührt. APITZ (1937-42) hat ein atypisches chemisch mit Fibrin identisches Fasermaterial beobachtet, das nach spezifischem Gewicht, Gefrierpunktserniedrigung und anderen physikalischen Größen deutlich vom gewöhnlichen Fibrin unterscheidbar war. Dieses Profibrin ist ebenfalls bei der Gerinnung von Plasma in vitro gefunden worden. 1939 machte APITZ diese Substanz für die Agglutination von Thrombocyten verantwortlich. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen kann heute das Profibrin als Produkt zwischen den Thrombocyten

im Thrombus zwar abgelehnt werden, aber auch die eigenen Versuche zeigen, daß Fasern in vitro und in vivo keineswegs gleichgestaltet zu sein brauchen, obwohl sie chemisch höchstwahrscheinlich identisch sind.

D. Zusammenfassung

Bei der Lebendbeobachtung am Mäusemesenterium wurden die Durchblutungsstörungen in der terminalen Strombahn, die Stase und Thrombose, funktionell und morphologisch analysiert. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Die Stase wird wahrscheinlich durch eine reizbedingte funktionelle oder morphologische Gefäßwandalteration ausgelöst. Es gibt je nach Gefäßwandschädigung reversible oder irreversible Stasen. Die Stase hat mit einer Gerinnung nichts zu tun, weil sie im allgemeinen schnell reversibel ist, und weil Fasern im Staseblut nicht auftreten.
2. Gefäßkaliberschwankungen kommen in der terminalen Strombahn in Verbindung mit Stase und Peristase häufig vor. Gesetzmäßige Beziehungen zwischen Gefäßweite und Staseeintritt sind nicht festzustellen.
3. Die Thrombose wird durch eine elektronenmikroskopisch nachweisbare Gefäßwandalteration ausgelöst.
4. Verletzungsthromben bilden sich in ca. 60 Sekunden nach der Verletzung und führen zur Hämostase. Sie sind mit den Abscheidungsthromben identisch.
5. Thromben bestehen aus einem defektnahen Plättchen-clot und einem diesen umgebenden Fibrinfasergerinnsel.
6. Die Plättchenagglutination vollzieht sich äußerst schnell in Sekunden durch visköse Metamorphose. Fasern (Profibrin) treten im Plättchen-clot nicht auf. Der Plättchen-clot ändert nach elektronenoptischen Befunden seine Gestalt im Ablauf von 45 Minuten nicht.
7. Das umgebende Fibringerinnsel stabilisiert den Plättchen-clot. Es entsteht langsamer als die visköse Metamorphose durch Gerinnung.
8. Die Fibrinbildung aus Fibrinogen läßt sich im Ablauf von Minuten elektronenoptisch verfolgen. Die Fibrinfaserbildung ist ein Polymerisationsvorgang in mehreren Stufen.

9. Das Plasmagerinnsel in vitro ist mit dem Fibrin-
gerinnsel in vivo morphologisch nicht identisch:
Fibrin in vivo hat elektronenoptisch darstellbare
periodische Querstreifung, Fibrin in vitro dagegen
nicht.

E. Abbildungen zum Text



Abb. 1: Häutchenpräparat vom Mesenterium der Maus.
Färbung H. E., Vergrößerung 5-fach.

Dunkle Gefäße: Venen V (eine mittlere Stamm-
vene ist unterbunden).

Hellere Gefäße: Arterien A. Zartes Fettgewebe
FE mit Kapillaren umgibt als grauer Schleier
die Gefäßbündel.

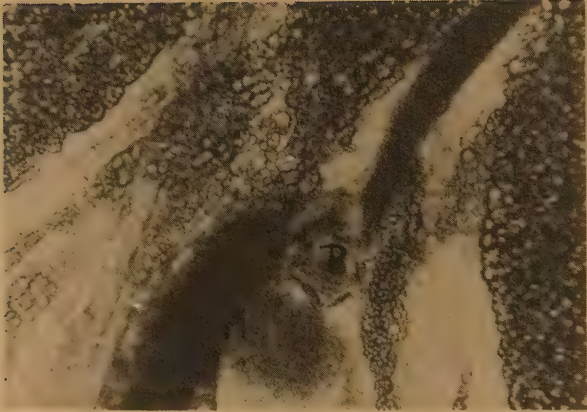


Abb. 2: Größere Vene mit Verletzungsthrombus.
Photo 5 Minuten nach Tötung des Tieres in situ.

Vergrößerung 50-fach.

P. Plättchenthrombus FM: Fädiges
Material

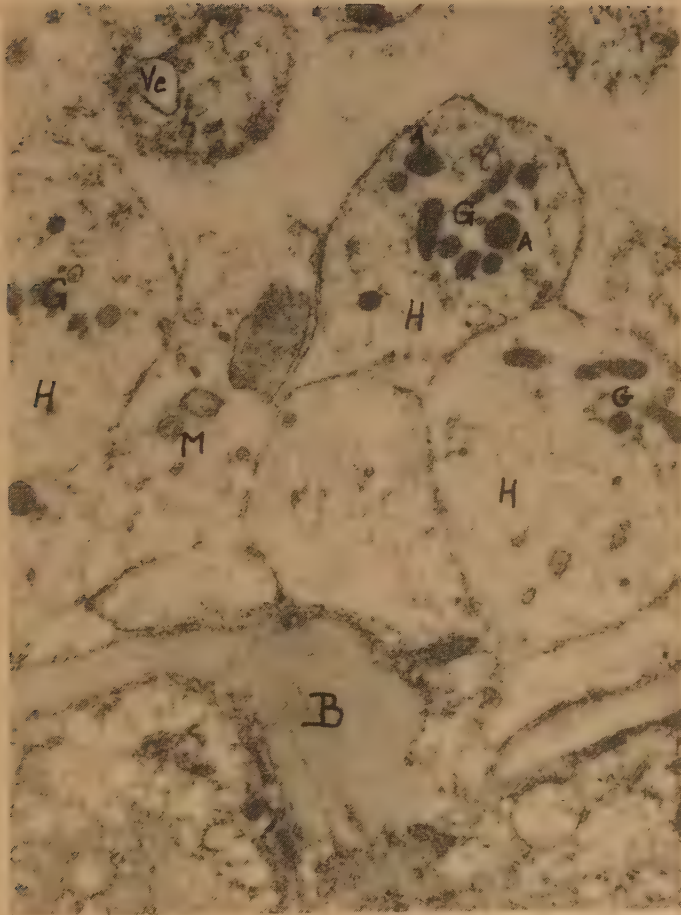


Abb. 3: Thrombocyten an geschädigter Gefäßwand.
Vergrößerung 12 000 x 2,7 (photographische
Nachvergrößerung).

Die Basalmembran B unmittelbar (oben) an-
liegendes Thrombocytenagglutinat. Kein
Fibrin.

G: Granulomer
H: Hyalomer
M: Mitochondrien
A: Alpha-Granula
Ve: Vesikel



Abb. 4: Thrombocytenagglutinat aus dem zentralen Anteil des Thrombus. Vergrößerung 4 000 x 2,7.

Die Thrombocyten sind dicht gepackt und zeigen variable Form und Größe. Verformter Erythrocyt E von Thrombocyten ebenfalls eng umschlossen. Kein Fibrin.

G: Granulomer

H: Hyalomer



Abb. 5: Peripherie des Thrombocytenagglutinates.
Vergrößerung 4 000 x 2,7.

Die außen liegenden Thrombocyten (Schicht I) sind aufgequollen, haben Membrandefekte und zeigen nur wenige Granula. Fibrin F und Erythrocyten E in ihrer Umgebung. Die Thrombocyten in Schicht II sind verdichtet und haben viele Vakuolen (Pfeil). Am linken Bildrand intakte Thrombocyten Th.

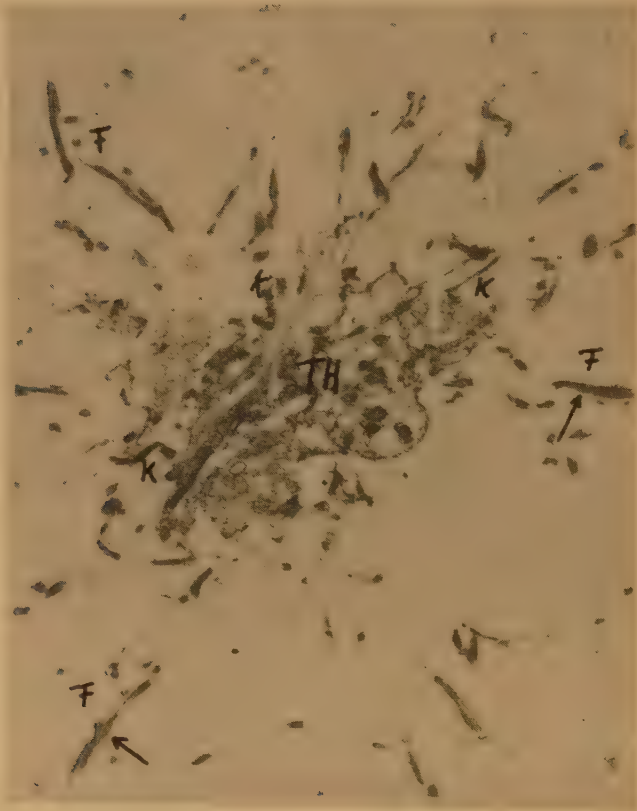


Abb. 6: Einzelner Thrombocyt im fädigen Anteil des Thrombus.

Vergrößerung 8 000 x 2,7.

Der Thrombocyt TH ist stark gelappt, aber sonst weitgehend intakt. Die Fibrinfibrillen und Fasern F sind radiär angeordnet und haben typische Querstreifung (Pfeil). Sie haben Kontakt mit der Zellmembran an einigen Punkten K.

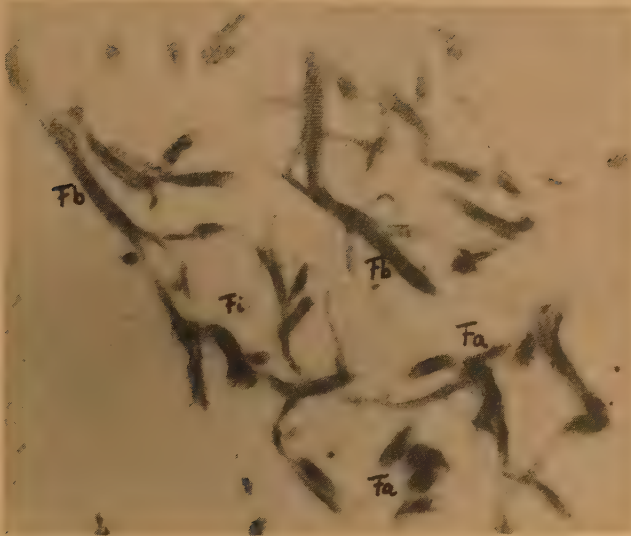


Abb. 7: Fibrin in der Peripherie des Thrombus
15 Minuten nach der Verletzung.

Vergrößerung 16 000 x 2,7.

Fibrillen Fb und Fasern Fa zeigen
periodische Querstreifung.
Einige Filamente Fi.



Abb. 8: Fädiges Material in der Peripherie des Thrombus 5 Minuten nach der Gefäßverletzung.

Vergrößerung 5 000 x 2,7.

Das fädige Material FM ist größtenteils kurz und "flockig" mit deutlicher Längsfilamentierung und nur angedeuteter periodischer Querstreifung. Einige längere Fibrillen Fb mit deutlicher periodischer Querstreifung (Pfeil) zahlreiche feinste Fibrillen und Filamente Fi. Ein Erythrocyt E, darunter Thrombocytenrümmen TH.

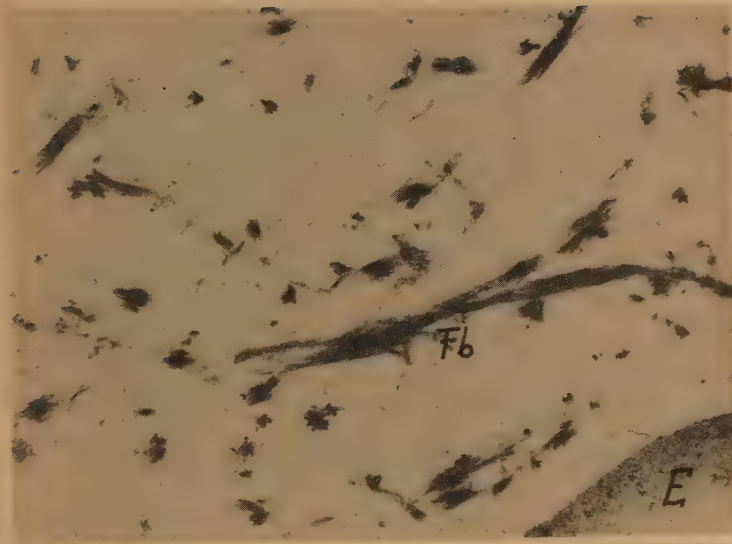


Abb. 9: Fädiges Material in der Peripherie des Thrombus 5 Minuten nach der Gefäßverletzung.

Vergrößerung 11 000 x 2,7.

Die lange Fibrille Fb zeigt deutliche periodische Querstreifung. Das übrige fädige Material ist vorwiegend aus dicht parallel gelagerten Filamenten zusammengesetzt und zeigt lediglich angedeutete Querstreifung.

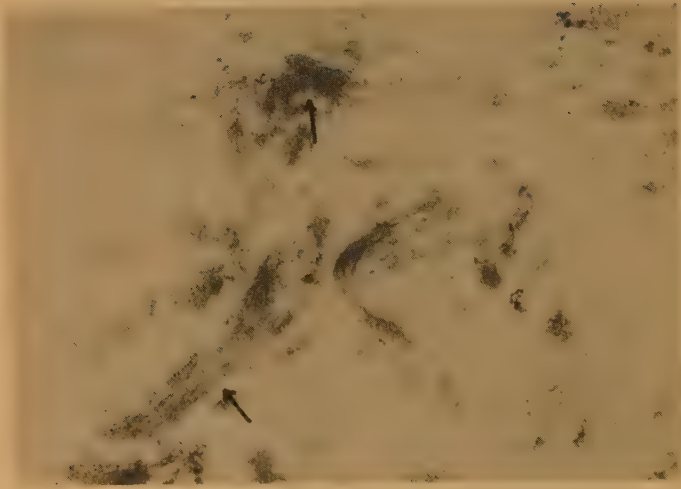


Abb. 10: Fädiges Material in der Peripherie des Thrombus 5 Minuten nach der Gefäßverletzung.

Vergrößerung 15 500 x 3.

Lockere teils ungeordnete teils parallele Zusammenlagerung von Filamenten. Beginnende Ausbildung von periodischer Querstreifung (Pfeil).

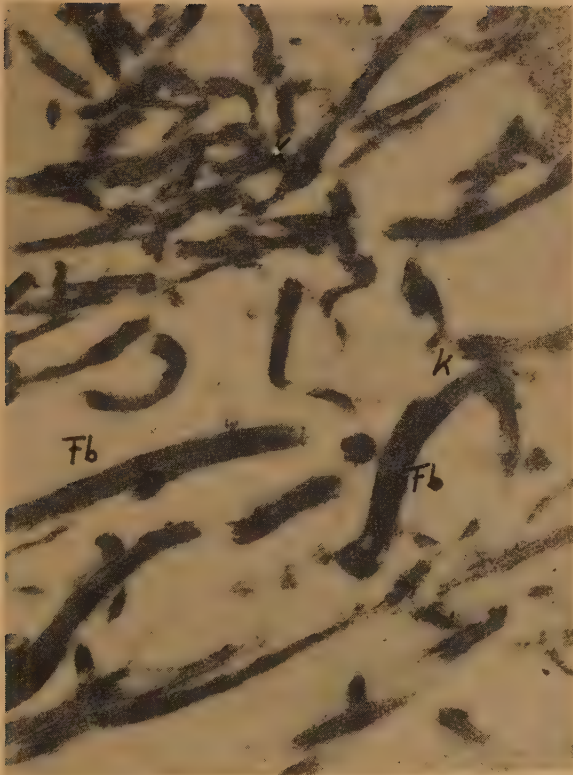


Abb. 11: Fibrin in der Peripherie des Thrombus 30 Minuten nach der Gefäßverletzung.

Vergrößerung 14 000 x 3,5.

Die Fibrillen Fb sind größtenteils linear begrenzt und zeigen periodische Querstreifung. An den Kontaktstellen K der Fibrillen und Verknüpfungspunkten zu Fasern ist die Querstreifung undeutlich oder fehlt.



Abb. 12: Fibrin in der Peripherie des Thrombus
45 Minuten nach der Gefäßverletzung.

Vergrößerung 13 000 x 6.

Die Fibrillen und Fasern zeigen periodische Querstreifung, sind jedoch im Vergleich zu denen der vorigen Bilder nicht so gleichmäßig stark, sondern erscheinen filamentär aufgegliedert. Filamentäres Material Fi verbindet die Fibrinfasern untereinander.



Abb. 13: Plasmagerinnsel aus Menschenblut in vitro nach 60 Sekunden (vor der makroskopisch sichtbaren Gerinnung).

Vergrößerung 16 000 x 2,7.

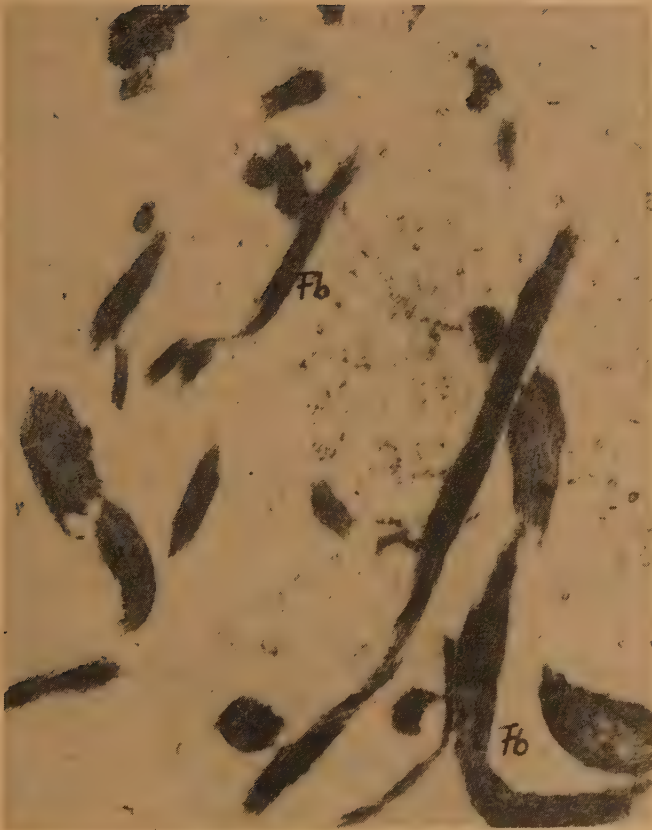
Die Fibrillen sind glatt begrenzt und haben feinstfilamentäre Struktur. Mit einer Lupe lassen die Filamente unterschiedliche Ausrichtung erkennen. Typische periodische Querstreifung tritt nicht auf.



Abb.14: Plasmagerinnsel von Menschenblut in vitro 3 Minuten nach makroskopisch sichtbarer Gerinnung.

Vergrößerung 8 000 x 2,7.

Faserbündel mit parallelen Filamenten.
Einige Thrombocytenrümpfe TH.



Plasmagerinnsel von Menschenblut in vitro
nach 25 Minuten bei Zugabe von Thrombo-
plastin.

Vergrößerung 16 000 x 2,7.

Die einzelnen Fibrillen Fb sind deutlich
filamentär gegliedert und zeigen nirgends
periodische Querstreifung.

Literatur-Verzeichnis

=====

- Apitz, K.: Über den Bau jüngster Plättchenthromben.
Zbl. Pathol. 50, S.9, 1931.
- Apitz, K.: Über Profibrin I.
Z. ges.exp. Med. 101, S.552, 1937.
- Apitz, K.: Über Profibrin II.
Z.ges.exp.Med. 102, S. 202, 1937.
- Apitz, K.: Über Profibrin III: Bildung und Bestand des
Profibrins unter physiologischen Verhältnissen.
Z.ges.exp. Med. 103, S.417, 1938.
- Apitz, K.: Thrombose als Gerinnung.
Kli.Wo. 17, S.1785, 1938.
- Apitz, K.: Über Profibrin IV: Die Agglutination der
Blutplättchen durch Profibrin.
Z. ges.exp. Med. 105, S.89, 1939.
- Apitz, K.: Studien über Gerinnung.
Virchow Arch.path.Anat. 308, S.540, 1941.
- Apitz, K.: Erg.Inn. Med. u. Kinderh. 61, S.54, 1942.
Die intravitale Blutgerinnung.
- Aschoff, L.: Beiträge zur Thrombosefrage.
Beitr. Path.Anat. 52, S.205, 1911.
- Baumgartner, H.R.: Eine neue Methode zur Erzeugung von
Thromben durch gezielte Überdehnung der Ge-
fäßwand.
Z. ges.exp.Med., 137, S.227, 1963.
- Bettex-Galland, M., Lüscher: Studies on the metabolism
of human blood platelets.
Thromb. Diath. Haem. 4, S.178, 1961.
- Bigelow, W.G., Heimbecker, Harrison: Intravascular
agglutination, vascular stasis and sedimen-
tation rate of the blood in trauma.
Arch. Surg. Chicago 59, S.667, 1949.
- Bizzozero, J.: Über einen neuen Formbestandteil des Blutes
und dessen Rolle bei der Thrombose und Blut-
gerinnung.
Virchow Arch. path. Anat. 90, S. 261, 1882.

- Bloom, G.: The morphology of human blood-platelets and the coagulation of blood in vitro. An electronmicroscopic study. Z. Zellforschung 42, S. 365, 1955.
- Bounameaux, Y.: L'accolement des plaquettes aux fibres sous-endothéliales. Thromb. Diath. Haem. 6, S. 504, 1962.
- Braunsteiner, H., Febvre: Thrombocyten und Fibrinbildung im Elektronenmikroskop. Acta Haemat. Basel 3, S. 174, 1950.
- Braunsteiner, H., Febvre: Fibrinbildung im Elektronenmikroskop. Wiener Z. Inn. Med. 1950b, S. 112, 1950.
- Braunsteiner, H., Reimer: Über den zeitlichen Ablauf der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung bei normaler Gerinnung. Wiener Z. Inn. Med. 1950, S. 375, 1950.
- Casassa, E.: The conversation of fibrinogen to fibrin. J. americ. chem. Soc. 78, S. 3980, 1956.
- Casassa, E., Billick: The conversation of fibrinogen to fibrin. J. americ. chem. Soc. 79, S. 1376, 1957.
- Castaldi, P.A., Firkin: An electronmicroscopic study of the changes in platelets during viscous metamorphosis. Blood 20, S. 566, 1962.
- Chambers, R. Z-welfach: Topography and function of the mesenteric capillary circulation. Amer. J. Anat. 75, S. 173, 1944.
- Chen, T.J., Tsai: The mechanism of haemostasis in peripheral vessels. J. Physiol. London 107, S. 280, 1948.
- Cohnheim, J.: Über venöse Stauung. Virchow Arch. path. Anat. 41, S. 220, 1867.
- Coopley, A.: Neue Auffassungen über Hämostase, Hämorrhagie und Thrombose. Ärztliche Forschung 11/I, S. 114, 1957.
- Dietrich, A.: Verh. dtsh. Ges. Kreislauff. 7, S. 48, 1934.

- Dietrich, A.: Verh. dtsch. path. Ges. 30, S.142, 1937.
- Dietrich, A.: Reaktive Thrombose im Tierversuch.
Virchow Arch. path. Anat. 307, S.281, 1940.
- Fasske, E.: Lehrbuch der histologischen Technik.
München-Berlin, Urban & Schwarzenberg, 1964.
- French, J.E., Poole: Electron microscopy of platelets in artificial thrombi.
Proc. of the Royal Soc. London Ser. B 157, S. 170, 1963.
- Hall, C.E.: Electron Microscopy of fibrinogen and fibrin.
J. Biol. Chem. 179, S. 857, 1949.
- Hall, C.E.: Studies on fibrinogen and fibrin with electronmicroscopy.
J. amer. chem. Soc. 71, S. 1138, 1949.
- Hall, C.E., Slayter: The fibrinogen molecule, its size, shape and mode of polymerization.
J. biophys. biochem. Cytol. 5, S.11, 1959.
- Hasché, E., Seeliger: Elektronenmikroskopische Befunde bei der Blutgerinnung.
Ärztl. Forschung 10, S. 267, 1956.
- Hasché, E., Seeliger: Elektronenmikroskopische Befunde bei der Blutgerinnung.
Ärztl. Forschung 11, S. 127, 1957.
- Haust, M.: Electron Microscopy of fibrin in human atherosclerotic lesions.
Exp. Molec. Path. Vol. IV/2, S. 87, 1965.
- Hawn, C., Porter: The fine structure of clots formed from purified bovine fibrinogen and thrombin, a study with the electron-microscope.
J. Exp. Med. 86, S. 285, 1947.
- Hutter, R.V.P.: Electron microscopy of platelets from human blood.
Amer. J. Clin. Path. Vol. 28/5, S. 447, 1959.
- Illig, L.: Experimentelle Untersuchungen zum Rickerschen Stufengesetz.
Kli. Wo. 1953, S. 366, 1953.
- Illig, L.: Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung der Stase.
Virchow Arch. path. Anat. 326, S. 501, 1955.

- Illig, L.: Die Kreislaufmikroskopie am Mesenterium und Pankreas des lebenden Kaninchens.
Z. ges.exp.Med. 126, S. 249, 1955.
- Illig, L., Conraths: Mikroskopische Lebendaufnahmen vom Kapillargebiet des Tieres und des Menschen.
C.H. Boehringer/Sohn Ingelheim/Rhein, Teil I, 1962.
- Johnson, S.A., Mc Kenna: Role of platelet fibrinogen in thrombification.
Thromb. Diath. Haem. 9, S.102, 1963.
- Jürgens, R., Braunsteiner: Zur Pathogenese der Thrombose.
Schweiz. Med. Wschr. 1950/2, S. 1388, 1950.
- Kjärheim, A., Hovig: The ultrastructure of haemostatic blood platelet plugs in rabbit mesenterium.
Thromb. Diath. Haem. 7, S. 1, 1962.
- Knisely, M.H., Bloch, Eliot, Warner: Sludged Blood.
Science (Lancaster Pa.) 106, S.431, 1947.
- Köppel, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchung zur Funktionsanalyse der Thrombocyten.
Z. Zellforschung 47, S. 401, 1958.
- Köppel, G.: Die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin.
Friedrich Karl Schattauer Verlag,
Stuttgart 1962.
- Krogh, A.: Anatomie u. Physiologie der Kapillaren.
Berlin, Springer-Verlag 1924.
Zit. bei Illig 1955
- Kuhnke, E.: Die elektronenoptische Querstreifung im retrahierten Fibrin.
Klin. Wo. 35, S. 983, 1957.
- Kuhnke, E.: Elektronenoptische Untersuchungen über die Veränderung des Thrombocyten und des Fibringerinnsels im Verlaufe der Gerinnung unter besonderer Berücksichtigung der Retraktion.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 268, S. 87, 1958.
- Kuhnke, E.: Der Abbau der Fibrinfibrillen während der Fibrinolyse.
Thromb. Diath. Haemorrh. 10, S. 243, 1963.
- Laki, K.: The clotting of fibrinogen.
Blood 8, S. 845, 1953.

- Laki, K., Gladner: Some aspects of the fibrinogen -fibrin transition.
Nature London 187, S. 758, 1960.
- Laki, K.: The clotting of fibrinogen.
Sci. Amer. 206, S. 60, 1962.
- Low, J., Freeman : Electron Micr. Atlas of normal and leukemic blood. S. 88-101.
Mc Graw-Hill Book Company INC New York 1958.
- Lüscher, E.F.: Die physiologische Bedeutung des Thrombocyten.
Schweiz. Med. Wschr. 1956/I, S. 345, 1956.
- Natus, M.: Beiträge zur Lehre von der Stase nach Versuchen am Pankreas des lebenden Kaninchens.
Virch. Arch. path. Anat. 199, S.1, 1910.
- Nordmann, M., Rüther: Über die Bedingungen der Leukodiapedese.
Virchow Arch. path. Anat. 279, S.45, 1931.
- Palade, G.: A study of fixation for electron microscopy.
J. Exp. Med. 95, S. 285, 1952.
- Parmeggiani, A.: Elektronenoptische Beobachtungen an menschlichen Blutplättchen.
Thromb. Diath. Haem. 6, S. 517, 1961.
- Policard, C.: Etude au microscope electronique de thrombi plaquettaires formées dans les capillaires pulmonaires au cours d'aressions experimentales par les particles ultramikroskopiques de silence.
Bull. microsc. appl. 5, S.7, 1955.
- Ricker, G.: Die Methode der direkten Beobachtung lokaler Kreislaufstörungen und die Verwertung pathoanatomischer Befunde in den Kreislauforganen für die Pathologie derselben.
Handb. d. biol. Arbeitsmeth. v. Abderhalden Abt. VIII, 1. Hälfte, S. 509-516, Berlin-Wien Urban u. Schwarzenberg 1925.
- Ricker, G. Regendanz: Beiträge zur Kenntnis der örtlichen Kreislaufstörungen.
Virchow Arch. path. Anat. 231, S. 1, 1921.

- de Robertis, E.: Electron microscopic studies of the action of thrombin on blood platelets. Blood 8, S. 587, 1953.
- de Robertis, E.: Electron microscopic observations of the platelet fibrin relationship in blood clotting. Blood 10, S. 528, 1955.
- Rodmann, N.F.: Morphologic alterations of human blood platelets during early phase of clotting. Am. J. Path. Vol. 40, No. 3, S. 271, 1962.
- Roskam, J., Hugues, Bounameaux, Salmon: The part played by platelets of the efficient haemostatic plug. Thromb. Diath. Haem. 3, S. 510, 1959.
- Roskam, J.: Handbuch der gesamten Hämatologie II/1, S. 489-94. München-Berlin, Urban u. Schwarzenberg 1959.
- Samuel, S.: Versuche über die Blutcirculation in der acuten Entzündung. Virchow Arch. path. Anat. 40, S. 213, 1867.
- Samuel, S.: Über Entzündung und Brand. Virchow Arch. path. Anat. 51, S. 41 u. S. 178, 1870.
- Schimmelbusch, G., Eberth: Experimentelle Untersuchungen über Thrombose. Virchow Arch. path. Anat. 103, S. 39, 1886.
- Schulz, H., Hiepler: Über die Lokalisation von gerinnungsaktiven Strukturen in submikroskopischen Strukturen. Kfl. Wo. 37, S. 273, 1959.
- Schwarz, W., Merker, Kutsche: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in Fibroblastenkulturen. Z. Zellforsch. 56, S. 107, 1962.
- Setna, S.S., Rosenthal: Intermediate stages in platelet alterations during coagulation. Acta haemat. Basel 19, S. 209, 1958.
- Still, W., Boulton: Electron microscopy appearance of fibrin in their sections. Nature London 179, S. 868, 1957.

- Tannenberg, J.: Experimentelle Untersuchungen über lokale Kreislaufstörungen. Das Rickersche Stufengesetz.
Frankf. Z. Pathol. 31, A. 173, 1925.
- Thoma, R. Über entzündliche Störungen des Capillarkreislaufs bei Warmblütern.
Virchow Arch. path. Anat. 74, S. 360, 1878.
- Weber, H.W.: Untersuchungen über das Rickersche Stufengesetz.
Frankf. Z. Pathol. 65, S. 137, 1954.
- Wiener, J. Study of experimental thrombosis.
Exp. Molec. Path. 1, S. 554, 1962.
- Witte, S.: Morphologische Befunde über die funktionelle Beziehung zwischen Blutgerinnung und Blutgefäßen.
C.H. Boehringer/Sohn, Ingelheim/Rhein.
- Witte, S., Schricker: Verhalten der Blutgefäße bei experimenteller Hämostase.
Z.ges.exp. Med. 133, S. 205, 1960.
- Witte, S., Schricker: Über die Blutstillung bei Serotoninausschaltung.
Thromb. Diath. Haem. 5, S. 505, 1961.
- Wolf, B.: Platelet distribution in plasma clots and thrombi.
Thromb. Diath. Haem. 6, S. 470, 1961.
- Wolpers, C.: Fibrinquerstreifung.
Kli.Wo. 25, S. 424, 1947.
- Wolpers, C., Ruska: Strukturuntersuchungen über Blutgerinnung.
Kli. Wo. 18, S. 1077, 1939.
- Wolpers, C., Ruska: Strukturuntersuchungen über Blutgerinnung.
Kli.Wo. 19, S. 695, 1940.
- Zahn, F.W.: Untersuchungen über Thrombose.
Virchow Arch. path. Anat. 62, S.81, 1875.
- Zucker, M.: Platelet agglutination and vasoconstriction as factors in spontaneous hemostasis in normal, thrombocytopenic heparinized and hypoprothrombinaemic rats.
Amer.J.Physiol. 148, S. 275, 1947.

Zucker, M., Borelli: Study about blood-circulation in capillary-vessels.

J. appl. Physiol. 7, S. 432, 1955.

L e b e n s l a u f

Am 14. Mai 1941 wurde ich, Jürgen Zingler, als Sohn des Versicherungsmathematikers Herbert Zingler und seiner Ehefrau Ilse, geborene Benad, in Berlin geboren und 1942 evangelisch getauft. Nach dem Tode meiner Eltern, meine Mutter starb 1946 an den Folgen der unzureichenden Ernährung und mein Vater starb etwa 1947 in einem sowjetischen Konzentrationslager in Bautzen, lebte ich zusammen mit meiner vier Jahre älteren Schwester zusammen bei der Schwester meiner Mutter und meiner Großmutter in der Umgebung von Berlin. Dort besuchte ich auch zunächst die Schule, bis wir nach West-Berlin umzogen. Hier besuchte ich den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig der Herder-Oberschule und machte im Frühjahr 1960 das Abitur. An der Freien Universität Berlin begann ich Medizin zu studieren und absolvierte nach 5 Semestern im Herbst 1962 das Physikum. Nach einem Semester an der Rheinischen Friedrich Wilhelms Universität Bonn kehrte ich wieder nach Berlin zurück.

Im Frühjahr 1966 schloß ich das Medizinstudium mit dem Staatsexamen in Berlin ab.

Meine Doktorarbeit begann ich im Wintersemester 1963/64 am Pathologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Für die freundliche Überlassung des Themas und für die wertvollen Anregungen bei der Bearbeitung möchte ich Herrn Professor Dr. med. W. Maßhoff meinen Dank aussprechen.

Herrn Dr. Stolpmann und Frau Hinz danke ich sehr herzlich für die große Hilfe bei der Zusammenstellung des Bildmaterials.

Meiner Tante, Frau Weiße, möchte ich für die vielen Schreibarbeiten und Korrekturen danken.

